

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/00153

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl<sup>6</sup> C12Q1/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl<sup>6</sup> C12Q1/02-1/20

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

Medline, Biosis Previews

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Protein, nucleic acid and enzyme, Vol. 22, No. 6 (May 1977) Chosaburo Yamamoto "In vitro synaptic activity" p. 502-505 ✓	1 - 13
X	Protein, nucleic acid and enzyme, Vol. 29, No. 12 (November 1984) Chosaburo Yamamoto "Electrical activity of brain section" p. 1205-1211 ✓	1 - 13
X	Protein, nucleic acid and enzyme, Vol. 29, No. 12 (November 1984) Eiichi Suematsu et al. "α receptor" p. 1338-1352	1-8, 10-13
X	Protein, nucleic acid and enzyme, Vol. 29, No. 12 (November 1984) Yoichiro Kuroda "Adenosine/ATP receptor in nervous system and physiologic function" p. 1405-0423 ✓	1 - 13
X	Science of Human Body, Vol. 23, No. 3, (1972) Chosaburo Yamamoto "Electrophysiological experiment using brain section" p. 143-150 ✓	1 - 13



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

April 15, 1997 (15. 04. 97)

Date of mailing of the international search report

April 22, 1997 (22. 04. 97)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/00153

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Science of Human Body, Vol. 32, No. 5, (1981) Chosaburo Yamamoto "Recent knowledge obtained by using a brain section sample" p. 425-429	1 - 13
X	Brain Res., Vol. 244, No. 2, (1982) C. Yamamoto et al. "Black widow spider venom: excitatory action on hippocampal neurons" p. 382-386 -	1 - 13
X	Neuroscience, Vol. 7, No. 5, (1982) B.H. ✓ Gaehwiler et al. "Multiple actions of acetylcholine on hippocampal pyramidal cells in organotypic explant cultures" p. 1243-1245, 1247-1256	1 - 13
X	J. Neurosci. Methods, Vol. 14, No. 2, (1985) F. Gonzales et al. "Cell and explant culture of olfactory chemoreceptor cells" p. 77-90 ✓	1-7, 10-13
X	J. Biol. Chem., Vol. 256, No. 6, (1981) O. Hazeki et al. "Modification by Islet- activating Protein of Receptor-mediated Regulation of Cyclic AMP Accumulation in Isolated Rat Heart Cells" p. 2856-2862 ✓	1-7, 10-13
X	JP, 52-31825, A (Merck & Co., Inc.), ✓ March 10, 1977 (10. 03. 77) & BE, 845838, A & NL, 7609183, A & DE, 2639569, A & FR, 2322924, A & GB, 1514046, A	1-7, 10-13
X	JP, 4-504049, A (Anticancer Inc.), ✓ July 23, 1992 (23. 07. 92) & WO, 9011371, A & EP, 467885, A	1-7, 10-13
X	JP, 4-507199, A (Dade International Inc.), ✓ December 17, 1992 (17. 12. 92) & WO, 9117240, A & AU, 9178992, A & EP, 481066, A & US, 5242806, A & DE, 69113737, E & US, 5543327, A	1-7, 10-13
X	JP, 6-505636, A (Anticancer Inc.), ✓ June 30, 1994 (30. 06. 94) & WO, 9215700, A & EP, 573606, A	1-7, 10-13

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int Cl<sup>6</sup> C12Q1/02

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int Cl<sup>6</sup> C12Q1/02-1/20

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

Medline, Biosis Previews

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	蛋白質核酸酵素, 第22巻, 第6号 (5月, 1977) 山本長三郎「試験管内のシナプス活動」p. 502-505	1-13
X	蛋白質核酸酵素, 第29巻, 第12号 (11月, 1984) 山本長三郎「能切片の電気活動」p. 1205-1211	1-13
X	蛋白質核酸酵素, 第29巻, 第12号 (11月, 1984) 末松栄一 et al「 $\alpha$ 受容体」p. 1338-1352	1-8, 10-13
X	蛋白質核酸酵素, 第29巻, 第12号 (11月, 1984) 黒田洋一郎「神経系におけるアデノシン・ATP受容体とその生理機能」p. 1405-0423	1-13
X	生体の科学, 第23巻, 第3号, (1972) 山本長三郎「能切片を用いる電気生理学の実験法」p. 143-150	1-13
X	生体の科学, 第32巻, 第5号, (1981) 山本長三郎「能切片標本を利用して得られた最近の知見」p. 425-429	1-13
X	Brain Res., 第244巻, 第2号, (1982) C. Yamamoto et al「Black widow spider venom: excitatory action on hippocampal neurons」p. 382-386	1-13

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

15. 04. 97

国際調査報告の発送日

22.04.97

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

平 田 和 男

印

4 B

7 8 2 3

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Neuroscience, 第7巻, 第5号, (1982) B. H. Gaehwiler et al「MULTIPLE ACTIONS OF ACETYLCHOLINE ON HIPPOCAMPAL PYRAMIDAL CELLS IN ORGANOTYPIC EXPLANT CULTURES」P. 12 43-1245, 1247-1256	1-13
X	J. Neurosci. Methods, 第14巻, 第2号, (1985) F. Gonzales et al「Cell and explant culture of olfactory chemoreceptor cells」p. 77-90	1-7, 10-13
X	J. Biol. Chem., 第256巻, 第6号, (1981) O. Hazeki et al「Modification by Islet-activating Protein of Receptor-mediated Regulation of Cyclic AMP Accumulation in Isolated Rat Heart Cells」p. 2856-2862	1-7, 10-13
X	JP, 52-31825, A (メルク エンド カムパニー インコーポレーテッド) 10. 3月. 1977 (10. 03. 77) & BE, 845838, A & NL, 7609183, A & DE, 2639569, A & FR, 2322924, A & GB, 1514046, A	1-7, 10-13
X	JP, 4-504049, A (アンティキヤンサー インコーポレイテッド) 23. 7月. 1992 (23. 07. 92) & WO, 9011371, A & EP, 467885, A	1-7, 10-13
X	JP, 4-507199, A (デイド、インターナショナル、インコーポレイテッド) 17. 12月. 1992 (17. 12. 92) & WO, 9117240, A & AU, 9178992, A & EP, 481066, A & US, 5242806, A & DE, 69113737, E & US, 5543327, A	1-7, 10-13
X	JP, 6-505636, A (アンティキヤンサー インコーポレイテッド) 30. 6月. 1994 (30. 06. 94) & WO, 9215700, A & EP, 573606, A	1-7, 10-13

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

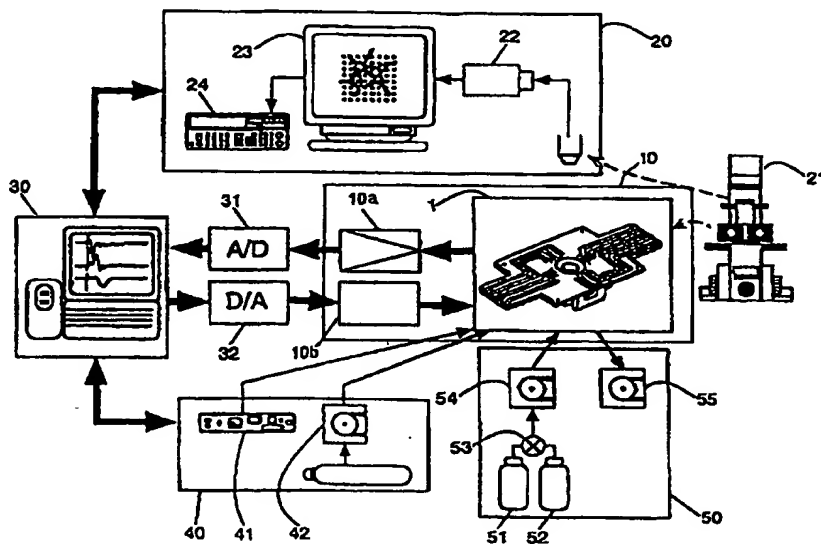
(51) 国際特許分類6 C12Q 1/02		A1	(11) 国際公開番号 WO97/27318
			(43) 国際公開日 1997年7月31日(31.07.97)
(21) 国際出願番号 PCT/JP97/00153		(22) 国際出願日 1997年1月24日(24.01.97)	
(30) 優先権データ 特願平8/9857 1996年1月24日(24.01.96) JP 8/662,629 1996年6月13日(13.06.96) US		(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 松下電器産業株式会社 (MATSUSHITA ELECTRIC INDUSTRIAL CO., LTD.)[JP/JP] 〒571 大阪府門真市大字門真1006番地 Osaka, (JP)	
(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 杉原宏和(SUGIHARA, Hirokazu)[JP/JP] 〒576 大阪府交野市幾野1丁目10番地630号 Osaka, (JP) 小林 康(KOBAYASHI, Yasushi)[JP/JP] 〒614 京都府八幡市男山雄徳8番地E9-404号 Kyoto, (JP) 岡 弘章(OKA, Hiroaki)[JP/JP] 〒573-01 大阪府枚方市杉山手1丁目10-10 Osaka, (JP)		(74) 代理人 弁理士 池内寛幸, 外(IKEUCHI, Hiroyuki et al.) 〒530 大阪府大阪市北区西天満4丁目3番25号 梅田プラザビル401号室 Osaka, (JP)	
		(81) 指定国 CA, CN, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
		添付公開書類 国際調査報告書	

(54) Title: **METHOD FOR MEASURING PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF TISSUES OR CELLS, METHOD FOR EXAMINING CHEMICALS, AND APPARATUS THEREFOR**

(54) 発明の名称 組織または細胞の物理化学的特性測定方法、薬品検査方法およびその装置

(57) Abstract

A method for measuring the physicochemical properties of tissues or cells for arbitrarily varying the physicochemical environment around the tissues or cells depending on the purpose of an experiment and an apparatus therefor. The apparatus involves means (40) for maintaining the regular physicochemical environment around a tissue or cells of an organism; means (50) for arbitrarily varying the physicochemical environment; means (10 and 20) for measuring the physicochemical properties of the above-mentioned tissue or cells; and means (30) for comparing the physicochemical properties of the tissue or cells before and after varying the physicochemical environment. The monitoring means (10) is a potentiometer for measuring the electrical and physiological properties of the tissue or cells which involves an integrated cell installation system (1) provided with two or more micro-electrodes (11) on a substrate, cell installation members (6) located thereon for installing the above-mentioned tissue or cells and a leading pattern (12) whereby electric signals are supplied to the micro-electrodes (11) and drawn out therefrom.



(57) 要約

実験目的に応じて組織または細胞周辺の物理化学的環境に任意の変化を加えることのできる組織または細胞の物理化学的特性測定方法および装置を提供する。生物の組織または細胞をとりまく物理化学的環境を一定に保つための手段40と、前記物理化学的環境を任意に変化させるための手段50と、前記組織または細胞の物理化学的特性を観測するための手段10および20と、前記物理化学的環境を変化させる前後での前記組織または細胞の物理化学的特性を比較するための手段30を含む装置である。前記観察手段10は、組織または細胞の電気生理学的特性の測定のための電位測定装置であり、この装置が、基板上に複数の微小電極11を備え、その上に前記組織または細胞を置くための細胞設置部6を備え、前記微小電極11に電気信号を付与しかつ前記微小電極から電気信号を導出するための引出しパターン12とを備えた一体化細胞設置器1を含む。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願をパンフレット第一頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AL	アルバニア	EE	エストニア	LR	リベリア	RU	ロシア連邦
AM	アルメニア	ES	スペイン	LS	レソト	SD	スーダン
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LT	リトアニア	SE	スウェーデン
AU	オーストラリア	FR	フランス	LÜ	ルクセンブルグ	SG	シンガポール
AZ	アゼルバイジャン	GB	ガブリリス	LV	ラトヴィア	SI	スロヴェニア共和国
BB	バルバドス	GE	グルジア	MC	モナコ	SK	スロバキア共和国
BE	ベルギー	GH	ガーナ	MD	モルドバ	SN	セネガル
BF	ブルキナ・ファソ	GK	ギニア	MG	マダガスカル	SZ	スワジランド
BG	ブルガリア	GR	ギリシャ	MK	マケドニア	TD	チャド
BJ	ベナン	HU	ハンガリー	VI	ヴィエトナム	TG	トーゴ
BR	ブラジル	IE	アイルランド	ML	マリ	TJ	タジキスタン
BY	ベラルーシ	IS	アイスランド	MN	モンゴル	TM	トルクメニスタン
CA	カナダ	IT	イタリア	MR	モーリタニア	TR	トルコ
CC	中央アフリカ共和国	JP	日本	MW	マラウイ	TT	トリニダード・トバゴ
CF	コンゴ	KE	ケニア	MX	メキシコ	UA	ウクライナ
CH	スイス	KG	キルギスタン	NE	ニジェール	UG	ウガンダ
CI	コート・ジボアール	KP	朝鮮民主主義人民共和国	NL	オランダ	US	米国
CM	カメルーン	KR	大韓民国	NO	ノルウェー	UZ	ウズベキスタン共和国
CN	中国	KZ	カザフスタン	NZ	ニュージーランド	VN	ベトナム
CC	ココス共和国	LI	リヒテンシュタイン	PL	ポーランド	YU	ユーゴスラビア
CD	コンゴ	LK	スリランカ	PT	ポルトガル		
DE	ドイツ			RO	ルーマニア		
DK	デンマーク						



## 明 細 書

組織または細胞の物理化学的特性測定方法、薬品検査方法およびその装置

## 技術分野

- 5 本発明は、生物の組織または細胞に対し、物理化学的環境の変化による、組織または細胞の物理化学的特性を測定するものであり、中枢神経薬をはじめとする生物に投与される種々の薬物の効力を調べる方法およびその装置に関し、主として環境科学分野、医療科学分野、薬学分野、食品科学分野そして神経生理学分野で用いられる。

10

## 背景技術

- 近年送電線の設置や携帯電話、コンピュータのモニタ等の電気機器の使用に伴い、強い電磁場の存在が身近なものとなった。また、薬学、食品科学、有機化学等の進歩に伴い、新たな薬剤や食品添加物、従来自然  
15 に存在しなかった化学物質が続々と開発されている。これらの人工的な物理化学的環境が生物に及ぼす影響について明らかにするため、主として人間を対象とした統計的手法を用いた調査実験や動物実験が行われてきた。

- しかしながら環境科学分野における人間を対象とした統計的調査実験  
20 は、一定条件の母集団の設定が非常に困難であり、調査時間もかなり必要とする。また人間、個々人の遺伝的背景や生活習慣、過去の食生活の履歴なども微妙に異なる。例えば、電磁波が人体のガン発生に及ぼす影響を検討するために、我々の身近にある電磁波発生源として高圧電線を取り上げたと仮定する。この場合、高圧電線に関係する近傍生活者の遺

伝的履歴、食生活の履歴、ガン発生臓器の分類、年齢、体重、性別、嗜好品、病歴、ウイルス感染の有無等調査条件を設定するのが困難である。そこで統計調査実験を行うと共に、上記条件設定の容易な実験動物を用いてモデル実験を十分に行う必要がある。そして上記実験では不可能な組織レベル、特に細胞ネットワークにおける実験を行うことは重要である。また薬学の分野において、例えば中枢神経系の新薬を開発するにあたり、従来は、実験動物の脳より単離神経細胞を調製、分散培養し、個々の細胞レベルで新薬の効果を薬理学的、電気生理学的、形態学的そして免疫学的に調べていた。しかしながら、脳神経機能は、神経細胞が体系的に集合した神経回路網により掌られている。それゆえ、前述したごとく脳の高次機能が神経回路網の全体的な挙動に基づくものだとすればこれらの薬品が神経回路網に及ぼす影響を明らかにする事がきわめて重要である事は論を待たない。それにもかかわらず、従来、組織レベルでの神経回路網や細胞間ネットワークにおける薬剤の影響を調べられなかった原因としては、まず、脳切片を用いた神経回路網におけるスクリーニング技術がなかった事が挙げられる。このため、神経回路網における作用機構が不明なまま一般薬理試験で効果が確認された種々の薬品が医療現場で使われているのが現状である。例えば、不眠症の有名な薬には、ハルシオンがあるが、この作用機構は、神経細胞の過分極にともなうGABA受容体の機能亢進による辺縁系および大脳皮質の神経過剰活動抑制と考えられている。しかしながら、この効果は、個々の神経細胞を用いて明らかになったものであり、神経回路網全体にどのような影響を及ぼすかは、明らかにされていない。また、精神分裂病の薬であるハロペリドールやクロザピンも神経回路網における影響を検討できずに患者に使用されている。逆に神経回路網において絶大な効果を示す、副作用の少ない薬剤が従来のスクリーニング方法では有効と判断されず、医

療の現場で使用されなかった可能性もある。

なお、前記生体器官レベルでの研究の必要性は、前記神経回路網の機能解明のみならず、他の生体器官の研究でもその必要性が認識されつつあり、医学、薬学等の生物学の分野において、この研究を効率良くしかも信頼性も高く実現する装置の開発が切望されている。

以上に述べたように、生物から摘出した組織または細胞の物理化学的特性を経時的に観察する事ができ、組織または細胞周辺の物理化学的環境を一定に維持する事ができ、しかも実験目的に応じて組織または細胞周辺の物理化学的環境に任意の変化を加える事ができ、さらに大量のサンプルを同時に調べる事ができる装置の開発が強く望まれている。

本発明は、かかる要望にかなう薬品の検査方法、組織または細胞の物理化学的特性測定方法および装置を提供する事を目的とする。

#### 発明の開示

前記目的を達成するため、本発明の生物の組織または細胞の物理化学的特性測定方法は、生物の組織または細胞をとりまく物理化学的環境の変化が、前記組織または細胞の物理化学的特性に及ぼす影響を観測するための方法であって、前記生物の組織または細胞をとりまく物理化学的環境を一定に保ち、次に、前記物理化学的環境を任意に変化させ、前記組織または細胞の物理化学的特性を観測し、前記物理化学的環境を変化させる前後での前記組織または細胞の物理化学的特性を比較するという方法である。

上記のように、本発明の生物の組織等の物理化学的特性測定では、生体から取り出された組織または細胞は、物理化学的環境を一定に保たれた状態で保存されてその物理化学的特性が測定され、つづいて、物理化学的環境の一部または全部を変化させ、再び組織または細胞の物理化学

的特性を測定する。そして、物理化学的環境を変化させる前後での、組織または細胞の物理化学的特性を比較することによって、物理化学的環境の変化が組織または細胞に及ぼす影響を明らかにすることができる。

- 5     したがって、この測定方法において、例えば、前記物理化学的環境の変化を化学物質等の添加により行えば、前記添加した化学物質の生体への影響を調べることができる。また、この測定方法において、例えば、前記物理化学的環境の変化を電磁場の付与により行えば、電磁場の生体への影響を調べることができる。

- 10     この組織等の物理化学的特性測定方法における好ましい態様は、少なくとも、細胞培養手段、環境調整手段、観察手段および比較手段を含む装置を用いて生物の組織または細胞の物理化学的特性を観察するための方法であって、下記の（Ａ）～（Ｅ）の工程を含む方法である。

- 15     （Ａ） 前記細胞培養手段により、前記組織または細胞を培養し、または前記細胞培養手段により、前記組織または細胞周辺の第１の物理化学的環境を維持する工程。

（Ｂ） 前記観察手段により、前記第１の物理化学的環境中の前記組織または細胞の第１の物理化学的特性を観察する工程。

（Ｃ） 前記環境調整手段により、前記第１の物理化学的環境から第２の物理化学的環境に変化させる工程。

- 20     （Ｄ） 前記観察手段により、前記第２の物理化学的環境中の前記組織または細胞の第２の物理化学的特性を観察する工程。

（Ｅ） 前記比較手段により、前記組織または細胞の前記第１の物理化学的特性と、前記組織または細胞の前記第２の物理化学的特性とを比較する工程。

- 25     この好ましい態様の方法によれば、容易に組織または細胞の物理化学的特性を測定できる。

また、さらに好ましい態様は、前記第1の物理化学的環境から第2の物理化学的環境に変化させる工程が、前記細胞培養手段に使用された第1の培地から前記細胞培養手段に使用する第2の培地に置換することを含む方法である。この場合、前記第1の培地および前記第2の培地が、  
5 任意濃度の1つまたは複数の薬品を含むことが好ましい。

そして、本発明の生物の組織または細胞の物理化学的特性測定装置は、生物の組織または細胞をとりまく物理化学的環境の変化が前記組織または細胞の物理化学的特性に及ぼす影響を観測するための装置であって、下記の(A)～(E)の手段を含む装置である。

10 (A) 前記組織または細胞を培養し、または前記組織または細胞周辺の物理化学的環境を維持するための細胞培養手段。

(B) 前記組織または細胞の第1の物理化学的環境中の物理化学的特性を観察する観察手段。

15 (C) 前記組織または細胞が維持されている物理化学的環境を調整するための環境調整手段。

(D) 前記環境調整手段により、第1の物理化学的環境から第2の物理的環境に変化させたときの前記組織または細胞の物理化学的特性を観察する観察手段。

20 (E) 第1の物理化学的環境における前記組織または細胞の物理化学的特性と第2の物理化学的環境における前記組織または細胞の物理化学的特性とを比較するための比較手段。

この装置において、前記環境調整手段が、前記細胞培養手段に使用する培地に化学物質、微生物またはウイルスを添加する手段と、前記細胞培養手段に使用された任意の濃度の1つまたは複数の薬品を含む第1の  
25 培地から前記培養手段に使用する任意の濃度のひとつまたは複数の化学物質、微生物またはウイルスを含む第2の培地に置換するための手段と

を含むことが好ましい。

なお、前記化学物質は、人口的に合成された化学物質だけでなく、蛋白質、核酸、糖類、脂質等の天然化学物質などの化学物質を含む広い概念である。これは、以下も同様である。

- 5      また、この装置において、前記環境調整手段が、前記細胞培養手段に使用する培地に物質を添加するための手段と、前記細胞培養手段に使用された第1の培地から前記培養手段に使用する第2の培地に置換するための手段とを含むことが好ましい。

- 10      また、前記観察手段は、組織または細胞の電気生理学的特性の測定のための電位測定装置であり、この装置が、下記の（A）および（B）を含むことが好ましい。

- 15      （A） 基板上に複数の微小電極を備え、その上に前記組織または細胞を置くための細胞設置部を備え、前記微小電極に電気信号を付与しかつ前記微小電極から電気信号を導出するための電氣的接続手段とを備えた一体化細胞設置器。

（B） 前記一体化細胞設置器の電氣的接続手段に接続されている前記組織または細胞の電気生理学的活動により生じる出力信号を処理するための手段。

- 20      さらに、前記（A）および（B）に加え、下記（C）を含むことが好ましい。

（C） 前記一体化細胞設置器の電氣的接続手段に接続されている前記組織または細胞に電氣的刺激を与えるための手段。

このような好ましい態様の装置により、例えば、以下のような測定が可能となる。

- 25      一体化細胞設置器の細胞設置器に試料である組織または細胞がセットされ、複数の微小電極が組織または細胞に接触する。刺激信号付与手段

によって電気接続手段を介して複数の微小電極のうち任意の一对の電極間に刺激信号を印加する。他の各電極に得られる誘発電位の時間変化が電気接続手段を介して信号処理手段に与えられ、必要な信号処理を経て例えば表示装置に出力されるとともに、記憶装置に蓄えられる。次に物理化学的環境を変化させ同様の測定をおこなう。そして記憶装置に蓄えられた物理化学的環境を変化させる以前の測定結果を呼び出し、物理化学的環境を変化させた後の測定結果と比較する。なお、刺激信号を与えない自発電位の測定も同様にしておこなわれる。

このように、本発明の好ましい態様の装置では、体系化された一連の工程により測定が行われるため、組織等の物理化学的特性の測定を効率良く行うことができ、例えば薬品のスクリーニングのように大量処理を必要とする測定に有効である。また、本発明の好ましい態様の装置では、生体器官（例えば、マウスの大脳切片や心臓切片）の活動電位を容易に測定することができる、従来は細胞レベルまたは生体器官全体の収縮試験などの薬理テストによる判定が多かったが、本発明の装置は、生体器官を用いて部位間相互作用試験を多数のポイントで行うことを可能とした。この結果、全体として相殺されていた効果が相殺されずに調べることができ、信頼性の高いデータを多く得ることができるようになり、この点でも、薬品のスクリーニングテスト等が、効率的にしかも低コストで行えるようになる。

さらに、本発明の装置において好ましい態様は、前記一体化細胞設置器を複数備えることにより、複数の組織または細胞を培養しながらこれらの物理化学的特性を測定するようにすることである。このように、マルチアレイ化した一体化細胞設置器を備える装置では、一度に複数の組織または細胞を処理することができるため、測定的大幅な効率化を図ることが可能となり、大量のサンプル処理が必要となる薬品のスクリーニ

ング装置として最適なものとなる。

前記マルチアレイ化した一体化細胞設置器を備える装置において、複数の組織または細胞の物理化学的環境を個別に調整することが可能な環境調整手段を含むことが好ましい。

- 5 つぎに、本発明の薬品検査方法は、化学物質、微生物またはウイルスが添加される組織または細胞の電気的特性を検出する手段を備え、または外部から前記組織または細胞の視覚的特性を観測するための画像検出手段を備え、前記組織または細胞に、前記化学物質、微生物またはウイルスを添加した時の、前記組織または細胞の電気的特性または前記細胞
- 10 の視覚的特性を測定し、これら2つのパラメータから、添加した前記化学物質、微生物またはウイルスが前記組織または細胞に対して影響があったかどうかを判定する方法である。

- また、本発明の薬品検査装置は、化学物質、微生物またはウイルスが添加される組織または細胞の電気的特性を測定する電気的測定部と、前
- 15 記組織または細胞の視覚的特性を測定する視覚的特性検出部と、前記電気的特性部および視覚的特性検出部の出力から前記化学物質、微生物またはウイルスが前記組織または細胞に及ぼす影響を測定する薬品検査装置である。

## 20 図面の簡単な説明

- 図1は本発明の一実施例に係る細胞電位測定装置に使用される一体化細胞設置器の斜視図、図2は一体化細胞設置器の組立図、図3は一体化細胞設置器を構成する一体化複合電極の中央部に設けられた64個の微小電極及び引出しパターンを示す平面図、図4は一体化複合電極の断面
- 25 を模式的に示す図、図5は一体化複合電極を上部及び下部ホルダが挟んで固定した状態を示す平面図及び側面断面図、図6は図5の一体化複合



電極及び上下ホルダの斜視図、図 7 は上部ホルダに備えられた接触金具の側面図、図 8 は図 2 と逆の方向から見た一体化細胞設置器の組立図、図 9 は本発明の装置のブロック構成図、図 10 は本発明の装置を用いて測定されたメタンフェタミンが培養細胞の誘発電位に及ぼす急性効果を示す図、図 11 は本発明の装置を用いて測定されたメタンフェタミンが培養細胞の誘発電位に及ぼす慢性効果を示す図、図 12 は本発明の装置を用いて測定されたアセチルコリンが培養細胞の自発的な活動電位に及ぼす効果を示す図、図 13 は本発明の装置を用いて測定されたアドレナリンが培養細胞の自発的な活動電位に及ぼす効果を示す図、図 14 は一体化複合電極を複数形成してマルチアレイ化した例を示す上面図、図 15 はマルチアレイ用プリント配線板にマルチアレイ化した一体化複合電極を装着した状態を示す上面図、図 16 はマルチアレイ化一体化細胞設置器を用いた装置の構成例を示すブロック図、図 17 はマルチアレイ化一体化細胞設置器における送排液システムを示す斜視図である。

#### 15 発明を実施するための最良の形態

以下本発明の実施例を図面に基づいて説明する。

まず、本測定装置に使用する一体化細胞設置器について説明する。この一体化細胞設置器 1 は、図 1 に斜視図を、図 2 に組立図をそれぞれ示すように、ガラスプレートに複数の微小電極及びその引出しパターンが設けられた一体化複合電極 2、それを上下から挟んで固定する 2 分割ホルダ 3、4、及び、このホルダを固定するプリント配線板 5 からなる。

一体化複合電極については、特開平 6-78889 号公報等の開示されているものとほぼ同様である。厚さ 1.1 mm、大きさ 50 mm 角の透明パイレックスガラスからなる基板の中央部に 64 個の微小電極 11 が 8×8 のマトリックス状に形成され、各微小電極には引出しパターン 1

2が接続されている（図3参照）。各電極11は $50\mu\text{m}$ 角（面積 $25\times 10^2\mu\text{m}^2$ ）であり、隣接する電極の中心間距離は $150\mu\text{m}$ である。また基板の4辺には、各々16個、計64個の電気接点7が形成され（図2参照）、これらの電気接点と基板中央部の64個の微小電極とが  
5 1対1で対応するように引出しパターン12で接続されている。各辺の16個の電気接点はピッチ $1.27\text{mm}$ で並んでいる。この一体化複合電極2の製造方法を図4の断面図に基づいて以下に説明する。なお、図4は見易さのために各部の縮尺を変えて描いている。

ガラスプレート13の表面に $150\text{nm}$ 厚のITO（酸化インジウム  
10 錫）膜を塗布し、フォトリソグラフィ及びエッチングにより引出しパターン12を形成する。この上に $1.4\mu\text{m}$ 厚のポリイミド膜を塗布し、同様に絶縁被膜14を形成する。微小電極及び電気接点の部分はITO膜が露出しており、この部分に $500\text{nm}$ 厚のニッケルメッキ15及び $50\text{nm}$ 厚の金メッキ16を施す。内径 $22\text{mm}$ 、外径 $25\text{mm}$ 、高さ $10\text{mm}$ の円筒状ポリスチレン枠または円筒状ガラス枠6（図2参照）をガ  
15 ラスプレート13上の絶縁被膜14の表面にシリコン系接着剤を用いて接着する。この円筒状ポリスチレン枠またはガラス枠6はガラスプレート13の中心、すなわち64個の微小電極11の中心部と中心合わせした状態で固定され、このポリスチレン枠またはガラス枠6の内側が細胞設置部に相当する。このポリスチレン枠またはガラス枠6内に1重量  
20 %クロロ白金酸、0.01重量%酢酸鉛、0.0025重量%塩酸の水溶液を満たし、 $20\text{mA}/\text{cm}^2$ の電流を1分間通電することによって微小電極11の金メッキの表面に白金黒11aを析出させる。

次に、一体化複合電極2を上下から挟んで固定する2分割ホルダ3、  
25 4について説明する。ホルダ3、4は樹脂で形成され、図2に示すように、一体化複合電極2の縁部を保持するための段部と矩形開口とが中央

部に備えられている。上部ホルダ 3 には一対の固定具 8 と 16 個×4 対の接触金具 9 が備えられている。一体化複合電極 2 を挟んで固定したホルダ 3、4 の上面図を図 5 (A) に、その側面図 (B-B 断面図) を図 5 (B) に、そして裏側からみた斜視図を図 6 にそれぞれ示す。これらの図からもわかるように、固定具 8 は上部ホルダ 3 の対向する 2 辺に軸ピン 8 a によって枢支されている。また、下部ホルダ 4 の裏面の対向する 2 辺には溝 4 a が形成されており、ここに固定具 8 の凸条 8 b が嵌まることによって上下のホルダ 3、4 は一体化複合電極 2 を挟んだ状態でしっかり固定される。

一体化複合電極 2 の電気接点 7 に対応するように上部ホルダ 3 に設けられた 64 個の接触金具 9 は、BeCu に Ni 及び Au メッキを施したもののような弾力性に富む良導体金属板を加工して形成され、図 7 に示すような形状をしている。つまり、ピン部 9 a とその基部 9 b、そして、この基部 9 b から湾曲部 9 c を介して延びる可動接触部 9 d からなる。このような構造により、可動接触部 9 d は基部 9 b に対して弾性変位可能である。上部ホルダ 3 には接触金具 9 のピン部 9 a が挿通される孔と基部 9 b が嵌まる溝とが 64 (16×4) 箇所に形成されている。

図 2 及び図 5 (B) に示すように、接触金具 9 が上記孔及び溝に挿入され固定された状態で、ピン部 9 a が上部ホルダ 3 から突出している。

基部 9 b の長さが異なる 2 種類の接触金具 9 が交互に配置されることにより、上部ホルダ 3 から突出した 16 個のピン部 9 a は千鳥状の 2 列に並んでいる。後述するように、これらのピン部 9 a は外部との接続用のプリント配線板 5 に実装されたコネクタに接続される。

一方、接触金具 9 の可動接触部 9 d は、接触金具 9 が上部ホルダ 3 の孔及び溝に挿入され固定された状態で、上部ホルダ 3 の下面から突出している。この状態は、図 2 の組立図に対して反対側から見た組立図であ

る図 8 に良く示されている。一体化複合電極 2 を挟んでホルダ 3, 4 が固定された状態で、各接触金具 9 の可動接触部 9 d が一体化複合電極 2 の電気接点 7 に接触し、湾曲部 9 c の弾性変形によって所定の接触圧が接触部に与えられている。このようにして一体化複合電極 2 の微小電極 1 1 に引出しパターン 1 2 を介して接続する電気接点 7 は、接触金具 9 に対して小さい接触抵抗 (30 ミリオーム以下) で電氣的に接続される。

次に、プリント配線板 5 について説明する。このプリント配線板 5 は、一体化複合電極 2 とホルダ 3, 4 との組立品を固定するとともに、一体化複合電極 2 の微小電極 1 1 から引出しパターン 1 2、電気接点 7、そして接触金具 9 に至る電気接続をさらにコネクタを介して外部に引き出す役目を担っている。また、測定装置へのセット等の取り扱いを容易にする働きをもしている。

このプリント配線板 5 は両面パターンのガラスエポキシ基板を用いて構成されており、図 8 に示された裏面において、中央部に形成された円形開口の周囲 4 箇所にはコネクタ 5 a が設けられている。上部ホルダ 3 の表面 4 箇所から 2 列千鳥状に突出した 16 個のピン部 9 a がそれぞれ対応するコネクタ 5 a に挿入されることにより、一体化複合電極 2 とホルダ 3, 4 との組立品がプリント配線板 5 に固定されるとともに電氣的に接続される。

プリント配線板 5 の両側エッジ部 5 b には両面エッジコネクタ用の 2.54 mm ピッチの電気接点が形成され、これらの電気接点と中央部のコネクタ 5 a とが引出しパターン 5 c で接続されている。両側コネクタ 5 a の内側列は表面パターンで、外側列は裏面パターンでそれぞれ引き出され、それぞれのエッジ部 5 b に表裏両面で 32 個、したがって合計 64 個の電気接点が形成されている。機械的な固定を確実なものとする

ために、ビス止めによって上部ホルダ 3 をプリント配線板 5 に固定することもできる。

5 以上のように構成された一体化細胞設置器 1 を用いて構成した細胞電位測定装置の好適な実施例を図 9 に示す。本実施例の測定装置は、上述した一体化細胞設置器 1 と、この一体化細胞設置器 1 にセットされた細胞を光学的に観察するための倒立顕微鏡 2 1 を含む画像検出手段 2 0 と、細胞の電気的特性を検出する手段 1 0 と、細胞への刺激信号を付与する手段と、細胞からの出力信号を処理し比較する手段を含むコンピュータ 3 0 と、細胞の培養雰囲気を維持するための細胞培養手段 4 0 と、培養液に任意の化学物質を任意の濃度で添加したり、若しくは添加した化学物質を除去するための環境調整手段 5 0 を備えている。

15 画像検出手段 2 0 には、一体化細胞設置器 1 がセットされる倒立顕微鏡 2 1 (オリンパス製 I M T - 2 - F 又は I X 7 0 相当品) の他に、顕微鏡用の S I T カメラ (浜松ホトニクス製 C 2 4 0 0 - 0 8 相当品) 2 2、高精細度ディスプレイ 2 3、及び画像ファイル装置 (松下電器製 T Q - 2 6 0 0 又は F T Q - 3 1 0 0 F 相当品) 2 4 が含まれている。但し、高精細度ディスプレイ 2 3 はコンピュータ 3 0 のディスプレイを兼用してもよい。尚、上記の括弧内に示した具体的な装置は一例であり、これらに限られるものではない。以下同様である。

20 コンピュータ 3 0 には、W I N D O W S 対応のパーソナルコンピュータに A / D 変換ボード及び測定用ソフトウェアを搭載したものが使用される。A / D 変換ボードは図 9 の A / D 変換器 3 1 と D / A 変換器 3 2 を含んでいる。A / D 変換器 3 1 は 1 2 ビット 6 4 チャンネルであり、D / A 変換器 3 2 は 1 2 ビット 8 チャンネルである。

25 測定用ソフトウェアは刺激信号付与の条件や得られた検出信号の記録条件を設定するためのソフトウェアを含んでいる。この測定用ソフトウ

エアによって、コンピュータ 30 は細胞に刺激信号を付与する手段と、細胞から検出された信号を処理し比較する手段とを構成するだけでなく、画像検出手段 20 (S I T カメラ及び画像ファイル装置) や細胞培養手段 40 の制御をも司る。以下に、測定用ソフトウェアの主な仕様を画面ごとに説明する。

パラメータ設定画面では、キーボード又はマウスを用いて画面上で刺激波形を描くことにより、複雑な刺激条件の設定が可能である。また、記録条件の設定は、入力チャンネル数 64、サンプリングレート 10 k H z で数時間の連続記録に対応できるようにしている。さらに、刺激信号を付与する電極や細胞からの検出信号を取り出す電極の指定に関しては、画面上に表示された顕微鏡像をマウスやペンで指示することにより指定できるようにしている。その他、細胞培養手段 40 の温度や p H 等の諸条件の設定および環境調整手段 50 のバルブの切り替えやポンプのオン、オフさらにはポンプの流速等の諸条件の設定をキーボードを用いて行うことができる。

記録画面では、細胞から検出された自発活動電位又は誘導電位をリアルタイムで最大 64 チャンネル表示する。

以上のようなコンピュータ 30 から刺激信号が出力される場合、この刺激信号は D / A 変換器 32 及び電気的特性を検出する手段 10 に含まれるアイソレータ (BAK ELECTRONICS 社製 B S I - 2 相当品) 10 b を経て細胞に与えられる。つまり、一体化細胞設置器 1 の 64 個の微小電極 11 のうちの選択された 2 点間に刺激信号が印加される。そして、各微小電極 11 と G N D レベル (培養液の電位) との間に生ずる誘発電位は、64 チャンネル分の高感度増幅器 (日本光電 A B - 610 J 相当品) 10 a 及び A / D 変換器 31 を経てコンピュータ 30 に入力される。

次に、細胞培養手段 40 には、温度調節器 41 と、空気及び二酸化炭

素の混合ガスを供給する手段 4 2 とが備えられている。実際には、Medical Systems社製のマイクロインキュベータ P D M 1 - 2 相当品と温度コントローラ T C - 2 0 2 相当品、そして、C O <sub>2</sub> ポンベ等を用いて細胞培養手段 4 0 が構成される。このマイクロインキュベータはペルチェ素子によって 0 ~ 5 0 ℃ の温度範囲に制御することができ、液送速度 3 . 0 m L / m i n 以下、給気速度 1 . 0 m L / m i n 以下に対応しうる。あるいは、温度コントローラを内蔵しているマイクロインキュベータ（オリンパス社製 I M T 2 - I B S V 相当品）を用いてもよい。

そして、環境調整手段 5 0 には、溶液瓶 5 1、溶液瓶 5 2、バルブ 5 3、ポンプ 5 4 およびポンプ 5 5 が備えられている。溶液瓶 5 1 には通常の培養に用いる培養液が、溶液瓶 5 2 には前記培養液に任意の化学物質を任意の濃度溶解した溶液、すなわち試料溶液が入れられている。バルブ 5 3 を切り替えることによって、一体化細胞設置器 1 にポンプ 5 4 で送液される溶液を、培養液もしくは試料溶液のいずれかに設定することが可能である。そしてポンプ 5 4 と同じ流速に設定され、かつ同期して作動するポンプ 5 5 が、一体化細胞設置器 1 内の溶液を吸引する。このようにして一体化細胞設置器 1 内の溶液量を常に一定に保ちながら溶液の組成を変化させることが可能である。

なお、以上説明した装置は、一体化細胞設置器を一個備えた例であるが、本発明は、これに限定されるものではない。すなわち、ガラスプレート上に複数の一体化複合電極を形成し、さらに前記電極上のそれぞれにポリスチレン枠またはガラス枠を複数形成してもよい。このようにマルチアレイ化した一体化細胞設置器を備える装置では、一度に複数の組織または細胞を処理することができるため、測定的大幅な効率化を図ることが可能となり、大量のサンプル処理が必要となる薬品のスクリーニング装置として最適なものとなる。

図14に、一体化複合電極を縦3×横4（計12個）形成してマルチアレイ化した例を示す。図示のように、縦84mm、横127mm、厚さ1.1mmの透明パイレックスガラスからなる基板上に、微小電極11及びその引出しパターン12（図3参照）を縦3×横4（計12個）  
5 配列し、マルチアレイ化した一体化複合電極（以下、マルチアレイと省略する）60を構成した。各パターンの中央部は図3に示した単体の一体化複合電極2のものと同様であり、64個の微小電極11が8×8のマトリックス状に形成され、各微小電極には引出しパターン12が接続されている。電極サイズ（50μm角）および電極の中心間距離（15  
10 0μm）は一体化複合電極2と同様である。なお、同図において、一部分のみ微小電極11、引出しパターン12および電気接点61を具体的に記載し、他の部分は省略して記載している。

各パターンの4辺には、各々16個、計64個の電気接点61が形成され、これらの電気接点61とパターン中央部の64個の微小電極11  
15 とが1対1で対応するように引出しパターン12で接続されている。各辺の16個の電気接点61は、マルチアレイ60全体のサイズを取り扱いが容易なサイズ（縦84mm、横127mm）にするためにピッチ0.635mmで並んでいる点が、一体化複合電極2とは異なる。

図示の様に、本マルチアレイ60では同一のパターンを縦3×横4のマトリックス状に配置する事により、すべての引出しパターン12の長さはほぼ一定である。このため引出しパターン12部分に係わる抵抗値もほぼ一定となり、電気生理測定に好適なマルチアレイ60を得る事が  
20 できる。これに反し、例えば微小電極11については図14と同様の位置に配置し、すべての電気接点61についてはパイレックスガラス基板の端部に配置し、両者を1対1に接続するように引出しパターン12を  
25 配設すると、基板周辺部に位置する微小電極11からの引出しパターン



1 2 と、基板中央部に位置する微小電極 1 1 からの引出しパターン 1 2 では長さに大きな差ができる。このため引出しパターン 1 2 の抵抗に大きな差ができ、電気生理測定には不都合である。

5 以上のように計 1 2 個の微小電極 1 1 及びその引出しパターン 1 2 を配設したパイレックスガラス基板上に、さらに 1 2 個の内径 1 0 m m、外形 1 2 m m、高さ 1 0 m m の円筒状ガラスまたはポリスチレン棒 6 2 をシリコン系接着剤を用いて接着する。この円筒状ガラスまたはポリスチレン棒 6 2 は各パターンの中心、すなわち 6 4 個の微小電極 1 1 の中心部と中心をあわせた状態で固定され、棒の内側が細胞設置部に相当する。

マルチアレイ 6 0 の微小電極 1 1 及びその引出しパターン 1 2 の形成法は、前述した一体化複合電極 2 の場合と同様であるので、その説明を省略する。

15 マルチアレイ用ホルダは、一体化複合電極 2 用のホルダ 3、4 (図 1、図 2、図 5、図 6、図 7 及び図 8 参照) と同様に一体化複合電極を上下から挟んで固定する 2 分割ホルダである。マルチアレイ用ホルダでは、マルチアレイ 6 0 の微小電極 1 1 及びその引出しパターン 1 2 さらには電気接点 6 1 の位置や個数に対応すべく各部寸法や接触金具 9 (図 7 参照) の個数及び配置等に改変が加えられているが、マルチアレイ 6 0 の持つ 6 4 × 1 2 (計 7 6 8) 個の電気接点 6 1 と電氣的な接続を取るための機構はホルダ 3、4 と同様である。

25 図 1 5 には、マルチアレイ 6 0 およびマルチアレイ用ホルダを固定するマルチアレイ用プリント配線板 7 0 を上面から見た図を示した (マルチアレイ 6 0 を装着した状態の図を示した)。マルチアレイ用プリント配線板 7 0 は、マルチアレイ 6 0 およびマルチアレイ用ホルダを固定するとともに、マルチアレイの微小電極 1 1 から引出しパターン 1 2、電

気接点 6 1、そして接触金具 9 に至る電気接続をさらにコネクタを介して外部に引出す役割を担っている。マルチアレイ 6 0 及びマルチアレイ用コネクタをマルチアレイ用プリント配線板 7 0 に固定しかつ電氣的に接続する方法は、前述した一体化複合電極 2 とホルダ 3、4 をプリント配線板 5 (図 1、図 2 および図 8 参照) に固定しかつ電氣的に接続する方法と同様である。

マルチアレイ用プリント配線板 7 0 の 4 辺エッジ部 7 0 b には両面エッジコネクタ用の 1. 27 mm ピッチの電気接点 7 0 d が形成され、これらの電気接点 7 0 d と接触金具 9 のピン部 9 a (図 7 参照) とが引出しパターン 7 0 c で接続されている。ピン部 9 a は 2 列千鳥状に配設されており、内側列は表面側の電気接点 7 0 d に接続され、外側列は裏面側の電気接点 7 0 d に接続される。(図 1 5 は上面から見た図のため、表面側の電気接点 7 0 d のみが見える)。電気接点 7 0 d の数が多数であるため、マルチアレイ用プリント配線板 7 0 の表裏両面のみを用いて引出しパターン 7 0 c を配設するのはスペースの関係上困難である。そこで、マルチアレイ用プリント配線板 7 0 には多層構造を持つ配線板を使用した。図 1 5 には、第 1 層の引出しパターン 7 0 c を示した。図示のように、第 1 層では内側列のピン部 9 a のさらに一部(一辺につき 3 個のピン部 9 a) から引出しパターン 7 0 c を配設する。同様に第 2 層から第 6 層まで、3 個乃至 2 個のピン部 9 a からの引出しパターン 7 0 c を順次配設すれば、容易に引出しパターン 7 0 c の配設が可能である。

以上のように構成されたマルチアレイ化一体化複合電極 8 1 を用いて構成した細胞電位測定装置の好適な実施例を図 1 6 に示す。本実施例の測定装置は、上述したマルチアレイ化一体化複合電極 8 1 と、このマルチアレイ化一体化複合電極 8 1 にセットされた細胞を光学的に観察する

ための倒立顕微鏡を含む光学的観察手段と、細胞への刺激信号を付与する手段および細胞からの出力信号を処理する手段を含むデータ記録サブシステム 8 2 と、データ記録サブシステム 8 2 を制御するメインコントローラ 8 3 と、任意の薬剤を送液、もしくは排液するシステム 8 4 と、  
5 各ウェルから取り出される全チャンネル分（本実施例の場合は 6 4 チャンネル分であるから 6 4 チャンネル分と記述する）のアナログ電気信号を増幅する電気信号増幅装置 8 5 と、各ウェルの 6 4 チャンネル分の刺激電気信号を生成するアイソレータ 8 6 とを備えている。

ここで、データ記録サブシステム 8 2 は各々のウェル専用に設けられた  
10 た 6 4 チャンネル分のアナログ電気信号をデジタル変換し、そのデジタル変換されたデータの記録および読みだしを行ない、かつ 6 4 チャンネル分の刺激信号を、デジタルデータをもとにアナログ電気信号にて出力することが可能な装置で、6 4 チャンネルの A/D 変換装置と、6 4 チャンネルの D/A 変換装置と、磁気ディスクまたは光ディスクまたは磁  
15 気テープなどのデータ記録装置と、これら A/D 変換装置と D/A 変換装置とデータ記録装置を制御するコントローラとで構成されている。このデータ記録サブシステム 8 2 にさらに表示ディスプレイをつけて、個別の動作状況を確認することもできる。メインコントローラ 8 3 は各々のウェル専用に設けられたデータ記録サブシステム 8 2 を集中的に管理  
20 し、制御を行なう装置で、各々のデータ記録サブシステム 8 2 の動作環境の設定および、付属のディスプレイによって記録したデータの表示を行う。

そして図示のように、ガラス枠またはポリスチレン枠で独立した電極群が存在するマルチアレイ化一体化複合電極 8 1 の各ウェルに試験対象  
25 組織または細胞を、例えば後述する培養法実施例に示す方法で培養できる。また、物理化学的環境変化は、図 1 7 に示す送排液システムにより

行なえる。この送排液システムは、24個の送液ポンプ（P1）と12個の排液ポンプ（P0）を備えており、各ウェルに送液ポンプ2個と排液ポンプ1個がつながっている。この送排液システムは、図15のプリント配線板70の上にかぶせることにより、各ウェルに2種類の任意の薬品濃度の試験液を無菌的に任意量送液することができ、薬品の効果を電気生理学的に検査することができる。さらに無菌的に排液することもできる。送液ポンプには、バルブが備え付けられているので、各ポンプから任意に2種類の液を送ることも可能であり、計4種類の試験液を検査することができる。各ポンプの送排液量およびバルブの開閉は、メインコントローラ83により制御される。

次に、各ウェルから取り出される電気信号の記録、各ウェルに与えられる電気刺激信号の生成を行なう際の動作について説明を行なう。

メインコントローラ83と各々のデータ記録サブシステム82は、相互通信可能なバスによって接続され、メインコントローラ83は、各々のデータ記録サブシステム82に対し、個別にデータ記録のパラメータ（サンプリング速度、サンプリング時間、サンプリング間隔、サンプリングチャンネル）およびデータ記録開始や停止などの設定を行ない、各ウェルへの刺激波形のデータを送信することができる。このときに各パラメータの設定方法は、単一のウェルで行なう時と同様に設定可能で、かつ全ウェル分を同時に行なうことができるようになっている。これは単一のウェルの場合の設定画面をウェル数分もつマルチウインドウを構築することによってたやすく実現可能である。この設定に従ってデータ記録サブシステム82は、それぞれが独立にメインコントローラ83からの命令に従ってA/D変換およびデータ記録およびD/A変換の動作を行い、各ウェルからの電気信号の記録および各ウェルへの刺激波形の出力を行なうことができることは単一のウェルの場合と同様である。こ

のとき、各データ記録サブシステム 8 2 は自身のコントローラによる制御下に置かれるので、メインコントローラ 8 3 への負荷はなく、更に多くのウェルを同時に制御する場合においてもメインコントローラ 8 3 に過剰の負荷がかかることはない。またメインコントローラ 8 3 に、任意に指定したデータ記録サブシステム 8 2 からデータを逐次送信させることで、単一のウェルの時に行なっていたデータ処理をメインコントローラ 8 3 によって同様に行なうことができる。

以上のような組織または細胞の物理化学的特性測定装置を用いて、実際に一体化細胞設置器上で培養された組織又は細胞に物理化学的環境の変化を加え、その前後での組織または細胞の物理化学的特性の変化を測定した実施例について以下に説明する。

#### (実施例 1)

神経組織としてラット大脳皮質の切片を用い、後述する培養法実施例に示す方法で培養した。また、物理化学的環境変化としては、培養液中に覚醒剤の一種であるメタンフェタミンを加えた。さらに、組織または細胞の物理化学的特性としては、細胞の電気生理学的特性すなわち刺激信号を与えた際の誘発電位を測定した。

なお、細胞の培養に先立って、一体化複合電極 2 の各微小電極 1 1 と細胞との接着性を高める目的で、一体化複合電極 2 の表面を厚さ 50  $\mu$  m 以下のコラーゲンゲルで覆った。そして、コラーゲンゲル上に、かつ微小電極 1 1 上に位置するようにラット大脳皮質の切片（厚さ 500  $\mu$  m 以下）を置いて培養した。図 1 0 に、培養 6 日目に培地中に各種濃度のメタンフェタミンを加えて、30 分経過後に測定した誘発電位を、図 1 1 に培養 3 日目にメタンフェタミンを加えて、3 日後に測定した誘発電位を、各々メタンフェタミン添加前の誘発電位とともに示す。すなわち図 1 0 はメタンフェタミンの急性効果を表し、図 1 1 は慢性効果を

表している。

急性効果については（図10参照）、0.1mMのメタンフェタミンは誘発電位に影響を及ぼさなかった。0.5mMのメタンフェタミンを添加すると誘発電位は振幅がやや小さくなり、1mMでは、誘発電位は  
5 ほぼ消滅した。その後、溶液中のメタンフェタミンを除去し通常の培地組成に戻したところ、誘発電位はほぼもとの状態に復帰した。なお、図10において、図10（a）はメタフェミン添加前、図10（b）はメタフェミン0.1mM添加、図10（c）はメタフェミン0.5mM添加、図10（d）はメタフェミン1mM添加、図10（e）はメタフェ  
10 ミン除去後のそれぞれの状態を示す。

慢性効果については（図11参照）、0.1mMのメタンフェタミンの添加に伴い誘発電位は完全に消滅した。この濃度は、急性的には誘発電位に影響をおよぼさなかった濃度である。また、その10分の1の濃度である0.01mMであっても、やはり誘発電位は消滅した。さらに  
15 、メタンフェタミンを除去しても誘発電位は復帰しなかった。なお、図11において、図11（a）はメタフェミン添加前、図11（b）はメタフェミン0.01mM添加、図11（c）はメタフェミン0.1mM添加のそれぞれの状態を示す。

#### [大脳皮質培養法実施例]

##### 20 （1）培地

ダルベッコ改変イーグル培地とハムF12培地の1：1混合培地（GIBCO Co., LTD. 430-2500EB）に、以下の添加物を加えて用いた。

\*グルコース（glucose, GIBCO 820-5023IN）2.85mg/L

（上記培地にもともと含まれているものと合わせて、トータル6mg/L  
25 になる）

\*プトレシン（putrescine, SIGMA Co, LTD. P5780）100μM

\* プロジェステロン (progesterone, SIGMA P8783) 20nM

\* ハイドロコルチゾン (hydrocortisone, SIGMA H0888) 20nM

\* 亜セレン酸ナトリウム (sodium selenite, WAKO Co, LTD. 198-0319) 20nM

5 \* インシュリン (insulin, SIGMA 16634) 5mg/L

\* トランスフェリン (transferrin, SIGMA T1147) 100mg/L

\* 重炭酸ナトリウム 2.438mg/L

\* 1N HCl又は1N NaOHを適量加え、pH7.4に調整する。

以上の添加物を加え濾過殺菌した後、4℃で保存し使用に備えた。以

10 下、本培地を単に「培地」と呼ぶ。

## (2) 一体化複合電極上のウエルの構成

一体化複合電極 2 上での神経細胞または神経組織の培養の便を図るため、内径22mm、外径25mm、高さ10mmのポリスチレン製またはガラス製の円筒枠 6 を、以下に記載する方法で接着した。

15 (a) ポリスチレン製またはガラス製の円筒枠 6 (内径22mm、外径25mm、高さ10mm) の下面に、1 液性シリコン系接着剤 (ダウコーニング891または信越化学KE-42RTV) を必要十分量塗布する。

(b) 一体化複合電極 2 の中心とポリスチレン製またはガラス製の円筒枠 6 の中心が一致するよう注意しながら、両者を接着する。

20 (c) 埃の入りにくい環境で24時間放置することにより、接着剤を固化させる。

(d) 70%エタノールに5分漬けた後クリーンベンチ内で風乾することによって滅菌を行い、一体化複合電極 2 の表面の処理に備える。

## (3) 一体化複合電極 2 の表面の処理

25 一体化複合電極 2 の表面の細胞接着性を高めるため、以下の方法で一体化複合電極 2 の表面にコラーゲンを構成した。以下の操作は、全

て無菌的雰囲気下で行った。

(a) 以下のA, B, Cの溶液を用意し、氷冷しておく。

A. 0.3vol. %希塩酸コラーゲン溶液 (pH3.0、新田ゼラチン Cellmatrix Type I-A)

5 B. ダルベッコ改変イーグル培地とハムF12培地の1:1混合培地 (GIBCO 430-2500EB) に重炭酸ナトリウムを加えないで、通常用いる際の10倍濃度の液を作り、濾過滅菌したもの

C. 0.05N 水酸化ナトリウム溶液100mLに対し、重炭酸ナトリウム2.2g、HEPES (GIBCO 845-1344IM) 4.77gを溶かし、濾過滅菌したもの

10 (b) 冷却しながら、A, B, C液を8:1:1の割合で混合する。  
この際、AとBをよく混合した後にCを加え、さらに混合する。

(c) あらかじめ4℃程度に冷却しておいた一体化複合電極2のウェル内に、(b)の混合溶液1mLを分注し、一体化複合電極2のウェル内の表面をまんべんなく覆わせた後、ガラスパスツールピペットで混合  
15 溶液をできる限り取り除く。この操作により、厚さ50μm以下の混合溶液の被膜が構成される。

(d) 混合溶液被膜を構成した一体化複合電極2を37℃で30分間温めることにより、混合溶液をゲル化させ、コラーゲンマトリクスを構成する。

20 (e) 一体化複合電極2のウェル内に滅菌水1mLを加え、約5分間放置した後取り除くことにより洗浄を行う。

(f) (e)の操作を、あと2回(計3回)繰り返す。

(g) 一体化複合電極2のウェル内に、ダルベッコ改変イーグル培地とハムFH12培地の1:1混合培地 (GIBCO 430-2500EB) に上記の添加物を加えたもの (ただしインシュリンとトランスフェリンを除く) 1  
25 mLを分注し、温度37℃、相対湿度97%以上、CO<sub>2</sub>濃度5%、空



気濃度 95% に保った  $\text{CO}_2$  インキュベーター内に保存し、使用に備える。

(4) 神経細胞または神経組織の培養

5 培養形態は大まかに 2 種類に分けられる。すなわち、神経細胞の分散培養と神経組織の器官培養である。以下、各々について述べる。

(4-1) ラット大脳皮質視覚野神経細胞の分散培養法

以下の操作は、全て無菌的雰囲気下で行った。

(a) 妊娠後 16~18 日を経過した SD ラットの胎児の脳を摘出し、氷冷したハンクス平衡塩液 (GIBCO 450-1250EB) に浸す。

10 (b) 氷冷ハンクス平衡塩液中の脳から視覚皮質を切り出し、イーグル最小必須培地 (GIBCO 410-1100EB) 液中に移す。

(c) イーグル最小必須培地液中で、視覚皮質をできるだけ細かく、最大でも 0.2 mm 角となるように切断する。

15 (d) 細かく切断した視覚皮質を遠心分離用試験管に入れ、カルシウムおよびマグネシウムを含まないハンクス平衡塩液で 3 回洗浄した後、適量の同液中に分散する。

20 (e) 上記 (d) の遠心分離用試験管中に、0.25% のトリプシンを溶解したカルシウム及びマグネシウムを含まないハンクス平衡溶液を加え、全量を倍にする。緩やかに攪拌しながら、37℃ で 15 分間恒温状態に保ち、酵素反応を行わせる。

25 (f) 前記 (1-1) で示した培地 (添加物含む。以下、「培地」と略す) に、さらに 10 vol. % の牛胎児血清を加えたものを、上記 (e) を経た遠心分離用試験管中に加え、全量をさらに倍にする。先端をバーナーであぶり口径を小さくしたガラスパスツールピペットで、緩やかにピペッティングを繰り返し (最大 20 回程度)、個々の細胞を単離する。

(g)  $9806.65 \text{ m/sec}^2$  (すなわち  $1000g$ ) で5分間遠心分離を行った。遠心分離終了後、上清を捨て、沈殿を5%の牛胎児血清を含む培地に懸濁する。

(h) 前記(g)をあと2回(計3回)繰り返す。

5 (i) 最終的に得られた沈殿を、5 vol. %の牛胎児血清を含む培地に懸濁し、懸濁液中の細胞濃度を赤血球計数板を用いて計測する。計測後、同様の培地を用いて細胞濃度が  $2 \sim 4 \times 10^6$  個/ $\text{m}^3$  になるように調整する。

10 (j) 前記(1-3)の処理を経た後  $\text{CO}_2$  インキュベータ内に保存しておいた一体化複合電極を取り出し、ウェル内の培地(ただしインシュリンおよびトランスフェリンを含まない)を取り去り、新たに5 vol. %の牛胎児血清を含む培地  $500 \mu\text{L}$  を分注する。さらに、(i)の細胞濃度調整後の細胞懸濁液  $100 \mu\text{L}$  を静かに加え、再び  $\text{CO}_2$  インキュベーター内に静置する。

15 (k) 前記(j)の操作より3日後に、培地の半量を新しいものと交換する。交換する培地は牛胎児血清を含まない培地を用いた。牛胎児血清の濃度を低くすることによって、神経細胞以外の細胞(例えばグリア細胞)の増殖を抑える。

(l) 以後1~2日毎に上記と同様の培地交換を行う。

20 (4-2) ラット大脳皮質切片培養法

(a) 生後2日目のSDラットから、脳を取り出し、氷冷した0.25 vol. % D-グルコース入りハンクス平衡塩液に浸す。

25 (b) 氷冷した0.25 vol. % D-グルコース入りハンクス平衡塩液中で、脳に付着している脳膜を、大脳皮質を傷つけないように注意しながら、先の鋭利なピンセットを用いて除く。

(c) 脳膜を除いた大脳皮質の片側の脳梁から  $500 \mu\text{m}$  程度のところ

ろを、眼科手術用の微小ハサミを用いて、脳梁にそって後頭葉側から前頭葉側に向かって切断する。

(d) 続いて、眼科手術用の微小ハサミを用いて、(c) の切断面に垂直に  $200 \sim 300 \mu\text{m}$  の厚さで大脳皮質を切断し、切片を作る。

5 (e) さらに、眼科手術用の微小ハサミを用いて、切片の大きさを  $1 \times 1 \text{ mm}$  程度に調整する。

(f) 前述の「(3) 一体化複合電極2の表面の処理」で用意しておいた一体化複合電極を  $\text{CO}_2$  インキュベータから取り出し、大きさを調整した大脳皮質切片を口径  $2 \text{ mm}$  以上のピペットで傷つけないように静かに吸い取り、一体化複合電極2のウェル中に移す。

(g) バーナーであぶり先端を滑らかにしたパスツールピペットを用い、大脳皮質切片を傷つけないように注意しながら、皮質の層構造が上面を向きかつ微小電極11上に位置するように調整する。

15 (h) 大脳皮質切片を一体化複合電極2上にのせた後、培地の量を調整し、切片の底面が培地に触れ、上面が外気に触れる状態にする。

(i) 培地量の調整後、一体化複合電極2を滅菌ペトリ皿に入れ、培地の乾燥を防ぐために  $37^\circ\text{C}$  の滅菌水約  $5 \text{ mL}$  をペトリ皿に分注し、再び  $\text{CO}_2$  インキュベータ内に静置する。

20 (j) 以降、培地の量に注意し、毎日1回の培地交換を行った。培地の量については、上記(i)と同様とする。

この例によれば、メタンフェタミンが細胞に対して、どの程度効果を有しているのかを、電氣的、視覚的にとらえることが出来、薬品のスクリーニングとしては、非常によい結果が得られた。

(実施例2)

25 つぎに、神経組織以外の測定対象としてラットの心臓切片(組織)について測定した例を示す。前記心臓切片は後述の方法により培養した。

また、(i) アセチルコリンを培地に添加する前後、または(ii)アドレナリンを培地に添加する前後の2つの条件下、自発的活動電位の変化を記録した。培地は前記実施例1と同様のものを使用した。一体化複合電極2の構造および表面処理は、前記実施例1と同様とした。培養に先立ち、組織（細胞）と一体化複合電極2中の各微小電極11との接着特性を向上させるために、一体化複合電極2の表面をコラーゲンゲル（厚み50  $\mu$ m以下）で覆った。そして、前記コラーゲンゲル上であって微小電極11が位置する箇所に、ラットの心臓切片を置いて培養した。前記ラットの心臓切片は、洞房結節または房室結節が含まれるように調製した

図12(a)と図12(b)に、培養5日目における培地へのアセチルコリン添加前後の前記細胞の自発的活動電位を示す。アセチルコリンは、動物体内で副交感神経の末端から刺激に応じて分泌される化学物質であり、通常、血圧降下、心拍数の低下、腸管収縮、骨格筋収縮の作用を持つ。図12(b)に示すように、培地に終濃度1 mMのアセチルコリンを添加した後は、その添加前（図12(a)参照）に比べ、自発的活動電位の発生頻度が明らかに低下した。

図13(a)と図13(b)に、培養5日目における培地へのアドレナリン添加前後の前記細胞の自発的活動電位を示す。アドレナリンは、心臓の収縮を増す働きをすることが知られている。図13(b)に示すように、培地に終濃度1 mMのアセチルコリンを添加した後は、その添加前（図13(a)参照）に比べ、自発的活動電位の発生頻度が明らかに上昇した。

以下に、心臓切片の好適な培養方法を説明する。

#### [心臓切片培養例]

##### (1) 培地

前記実施例 1 と同じ培地を用いた。

(2) 一体化複合電極 2 上のウエルの構成

前記実施例 1 と同様の方法により構成した。

(3) 一体化複合電極 2 の表面の処理

5 前記実施例 1 と同様の処理を行った。

(4) 心臓切片の培養方法

前記実施例 1 における「ラット大脳皮質切片培養法 (4-2)」とほぼ同様の方法により培養を行った。以下に、培養法の詳細を示す。

10 (a) 生後 2 日目の S D ラットから、心臓を取り出し、氷冷した 0. 2 5 体積 % D - グルコース含有ハンクス平衡塩溶液に浸す。この際、何度か前記ハンクス平衡塩液を交換し、血液を良く洗い流す。

(b) 切片中に洞房結節および房室結節が含まれるように、注意深く心臓を切開し、心臓切片を調製する。

15 (c) 眼科手術用の微小ハサミを用い、切片の大きさを約  $1 \times 1 \text{ mm}$  にする。

(d) 前記「(3) 一体化複合電極 2 の表面の処理」で用意しておいた一体化複合電極 2 を  $\text{CO}_2$  インキュベーターから取り出し、大きさを調整した心臓切片を口径  $2 \text{ mm}$  以上のピペットで傷付けないように静かに吸い取り、一体化複合電極 2 のウェル中に移す。

20 (e) その先端をバーナーであぶって滑らかにしたパスツールピペットを用い、心臓切片を傷付けないように注意しながら、微小電極 1 1 上に位置するように調整する。

(f) 心臓切片を一体化複合電極 2 上にのせた後、培地の量を調整することにより、前記切片の底面が培地に触れ、前記切片の上面が外気に触  
25 れる状態にする。

(g) 培地量の調整後、一体化複合電極 2 を滅菌ペトリ皿に入れ、培地

の乾燥を防ぐために 37℃の滅菌水約 5 mL を前記ペトリ皿に分注し、再び CO<sub>2</sub> インキュベーター内に静置する。

(h) 以降、培地の量に注意し、毎日一回の交換を行う。培地の量については前記 (f) と同様にする。

- 5      なお、以上の実施例において、組織または細胞に投与する薬品としてメタンフェタミン、アセチルコリンまたはアドレナリンを用いたが、その他、解熱剤、睡眠薬等、別の薬効があると思われる薬品等の化学物質を用いて同様の測定を行っても、これら化学物質が与える組織または細胞の物理化学的特性の変化を知ることができ、この結果、これら化学物質の薬品としての効力を判定することができる。
- 10

#### 産業上の利用可能性

- 以上、説明したように、本発明の薬品の検査方法、組織または細胞の物理化学的特性測定方法および装置は、生物個体から必要な組織あるいは細胞を生きたまま必要な分量だけとりだし、組織または細胞周辺の物理化学的環境を適当に調整することにより、環境の変化による細胞の物理化学的特性の変化を経時的に観察することに利用できる。したがって、本発明の薬品の検査方法、組織または細胞の物理化学的特性測定方法および装置は、強い電磁場や磁場、従来自然界に存在しなかった化学物質等の人工的な物理化学環境が生物組織に及ぼす影響について明らかにする際、実験効率を著しく向上させることができる。特に、大量のサンプル処理が必要となる薬品スクリーニングにおいて、本発明の薬品の検査方法、組織または細胞の物理化学的特性測定方法および装置は、好適に利用可能である。さらに、従来の技術では困難であった切片を用いたスクリーニングを本発明では効率良く行うことができ、その結果、例えば、神経回路網の機能を解明し、また脳神経系の薬剤を開発することに
- 15
- 20
- 25

貢献できる。また、本発明は、実験に使用する動物数を減らすことにも  
貢献できる。

5

10

15

20

25

## 請 求 の 範 囲

1. 生物の組織または細胞をとりまく物理化学的環境の変化が、前記組織または細胞の物理化学的特性に及ぼす影響を観測するための方法であって、前記生物の組織または細胞をとりまく物理化学的環境を一定に保ち、次に、前記物理化学的環境を任意に変化させ、前記組織または細胞の物理化学的特性を観測し、前記物理化学的環境を変化させる前後での前記組織または細胞の物理化学的特性を比較する前記生物の組織または細胞の物理化学的特性測定方法。

2. 少なくとも、細胞培養手段、環境調整手段、観察手段および比較手段を含む装置を用いて生物の組織または細胞の物理化学的特性を観察するための方法であって、下記の（A）～（E）の工程を含む請求の範囲第1項に記載の方法。

（A） 前記細胞培養手段により、前記組織または細胞を培養し、または前記細胞培養手段により、前記組織または細胞周辺の第1の物理化学的環境を維持する工程。

（B） 前記観察手段により、前記第1の物理化学的環境中の前記組織または細胞の第1の物理化学的特性を観察する工程。

（C） 前記環境調整手段により、前記第1の物理化学的環境から第2の物理化学的環境に変化させる工程。

（D） 前記観察手段により、前記第2の物理化学的環境中の前記組織または細胞の第2の物理化学的特性を観察する工程。

（E） 前記比較手段により、前記組織または細胞の前記第1の物理化学的特性と、前記組織または細胞の前記第2の物理化学的特性とを比較する工程。

3. 前記第1の物理化学的環境から第2の物理化学的環境に変化させ



る工程が、前記細胞培養手段に使用された第1の培地から前記細胞培養手段に使用する第2の培地に置換することを含む請求の範囲第2項に記載の方法。

4. 前記第1の培地および前記第2の培地が、任意濃度の1つまたは複数の薬品を含む請求の範囲第3項に記載の方法。

5. 生物の組織または細胞をとりまく物理化学的環境の変化が前記組織または細胞の物理化学的特性に及ぼす影響を観測するための装置であって、下記の(A)～(E)の手段を含む組織または細胞の物理化学的特性測定装置。

- 10 (A) 前記組織または細胞を培養し、または前記組織または細胞周辺の物理化学的環境を維持するための細胞培養手段。

(B) 前記組織または細胞の第1の物理化学的環境中の物理化学的特性を観察する観察手段。

- 15 (C) 前記組織または細胞が維持されている物理化学的環境を調整するための環境調整手段。

(D) 前記環境調整手段により、第1の物理化学的環境から第2の物理的環境に変化させたときの前記組織または細胞の物理化学的特性を観察する観察手段。

- 20 (E) 第1の物理化学的環境における前記組織または細胞の物理化学的特性と第2の物理化学的環境における前記組織または細胞の物理化学的特性とを比較するための比較手段。

6. 前記環境調整手段が、前記細胞培養手段に使用する培地に化学物質、微生物またはウイルスを添加する手段と、前記細胞培養手段に使用された任意の濃度の1つまたは複数の化学物質、微生物またはウイルスを含む第1の培地から前記培養手段に使用する任意の濃度のひとつまたは複数の化学物質、微生物またはウイルスを含む第2の培地に置換する

ための手段とを含む請求の範囲第 5 項に記載の装置。

7. 前記環境調整手段が、前記細胞培養手段に使用する培地に物質を添加するための手段と、前記細胞培養手段に使用された第 1 の培地から前記培養手段に使用する第 2 の培地に置換するための手段とを含む請求の範囲第 5 項に記載の装置。

8. 前記観察手段は、組織または細胞の電気生理学的特性の測定のための電位測定装置であり、この装置が、下記の (A) および (B) を含む請求の範囲第 5 項に記載の装置。

- (A) 基板上に複数の微小電極を備え、その上に前記組織または細胞を置くための細胞設置部を備え、前記微小電極に電気信号を付与しかつ前記微小電極から電気信号を導出するための電氣的接続手段とを備えた一体化細胞設置器。

- (B) 前記一体化細胞設置器の電氣的接続手段に接続されている前記組織または細胞の電気生理学的活動により生じる出力信号を処理するための手段。

9. 前記 (A) および (B) に加え、下記 (C) を含む請求の範囲第 8 項に記載の装置。

(C) 前記一体化細胞設置器の電氣的接続手段に接続されている前記組織または細胞に電氣的刺激を与えるための手段。

10. 前記一体化細胞設置器を複数備えることにより、複数の組織または細胞を培養しながらこれらの物理化学的特性を測定することが可能な請求の範囲第 8 項に記載の装置。

11. 前記複数の一体化細胞設置器において、複数の組織または細胞の物理化学的環境を個別に調整することが可能な環境調整手段を含む請求の範囲第 10 項に記載の装置。

12. 化学物質、微生物またはウイルスが添加される組織または細胞

の電気的特性を検出する手段を備え、または外部から前記組織または細胞の視覚的特性を観測するための画像検出手段を備え、前記組織または細胞に、前記化学物質、微生物またはウイルスを添加した時の、前記組織または細胞の電気的特性または前記組織または細胞の視覚的特性を測定し、これら2つのパラメータから、添加した前記化学物質、微生物またはウイルスが前記組織または細胞に対して影響があったかどうかを判定する薬品検査方法。

13. 化学物質、微生物またはウイルスが添加される組織または細胞の電気的特性を測定する電気的測定部と、前記組織または細胞の視覚的特性を測定する視覚的特性検出部と、前記電気的特性部および視覚的特性検出部の出力から前記薬品が前記組織または細胞に及ぼす影響を測定する薬品検査装置。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

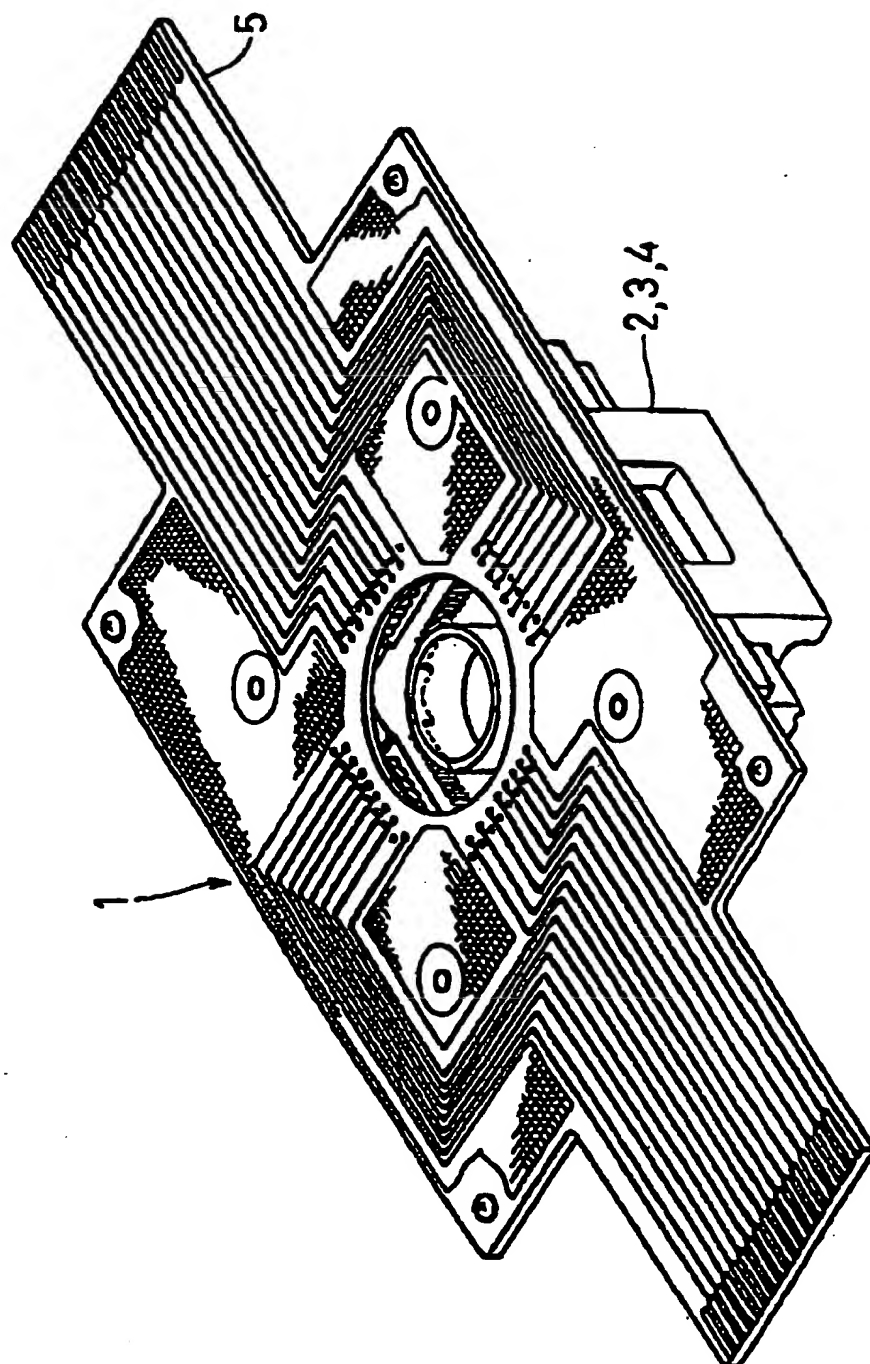


FIG. 1

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

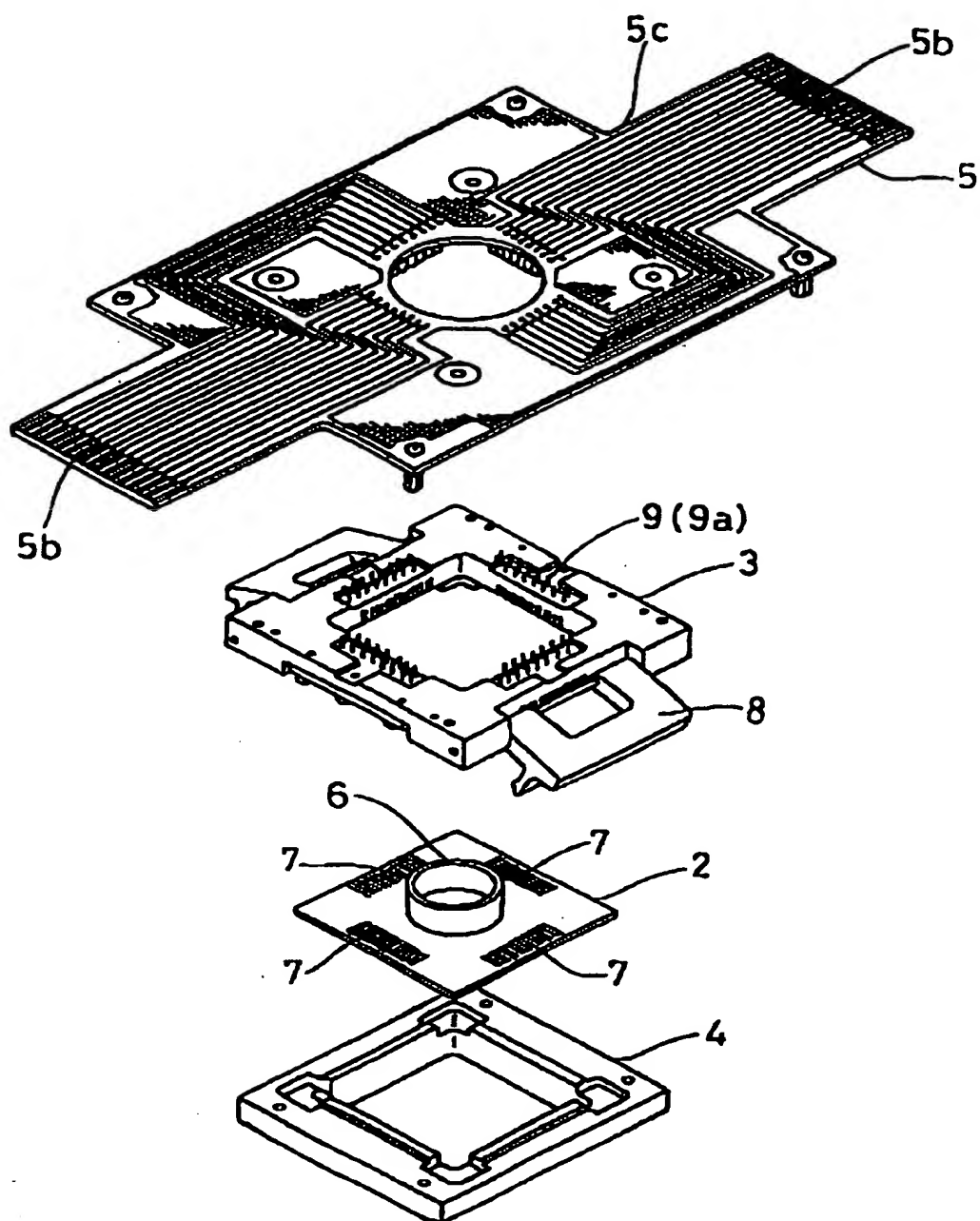


FIG. 2

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



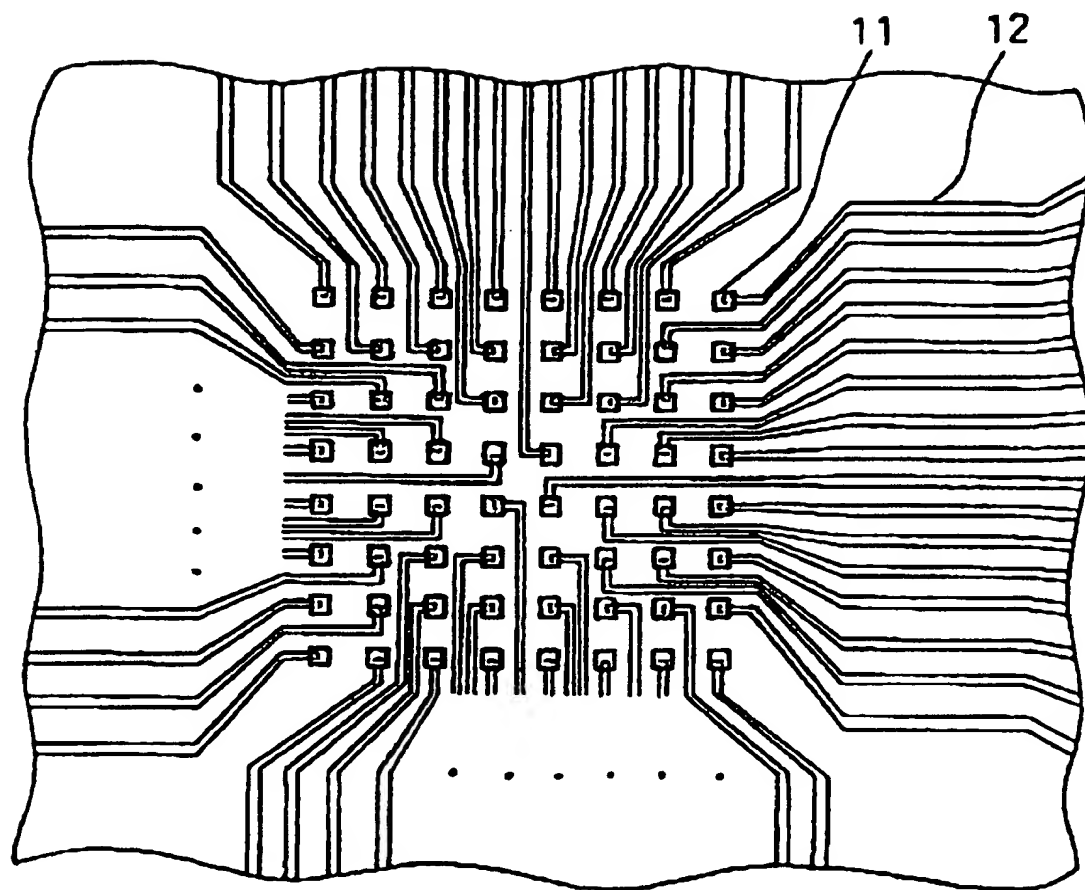


FIG. 3

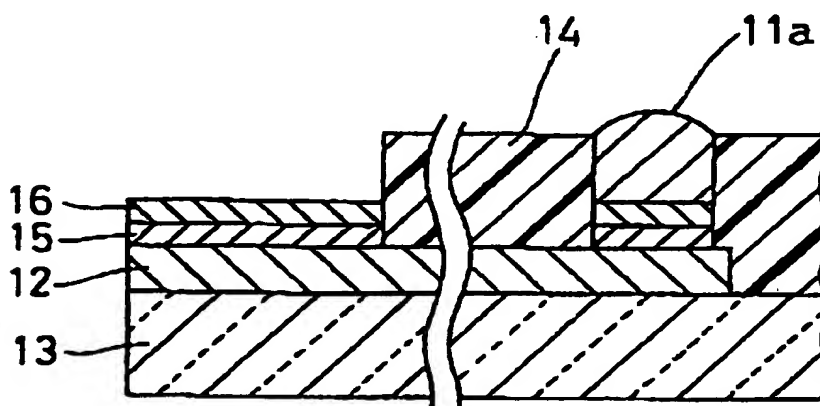


FIG. 4

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

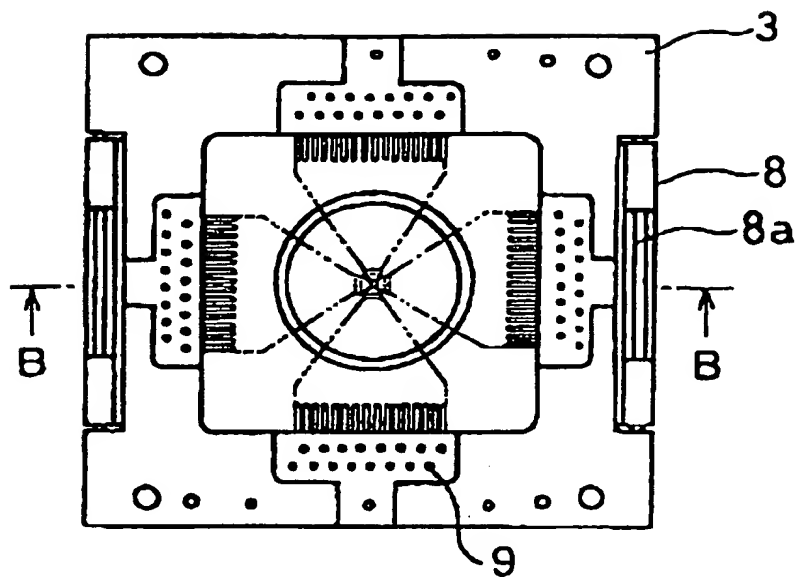


FIG. 5 (A)

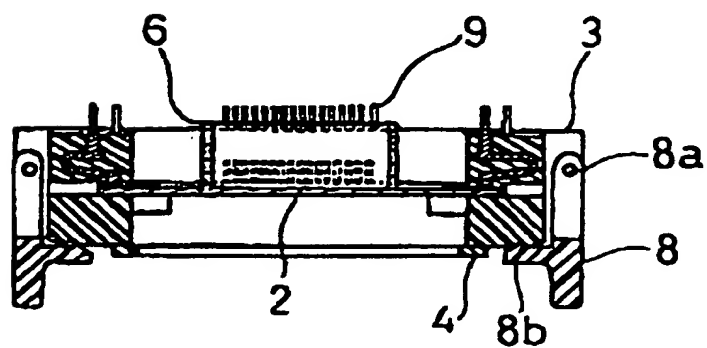


FIG. 5 (B)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

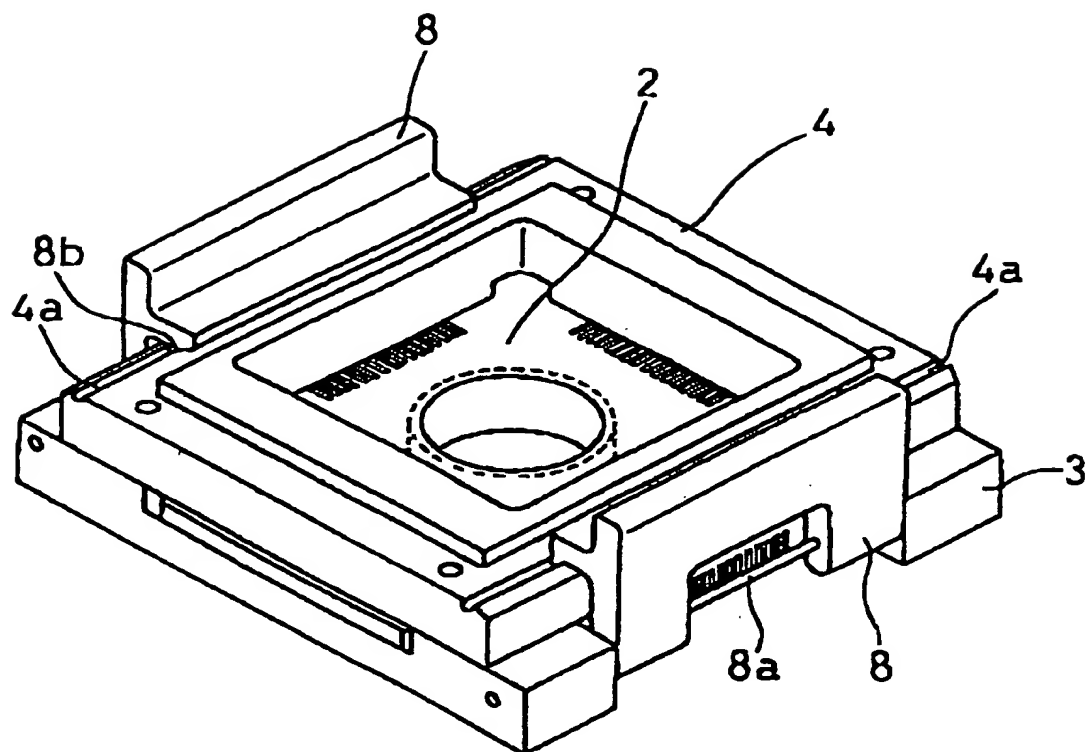


FIG. 6

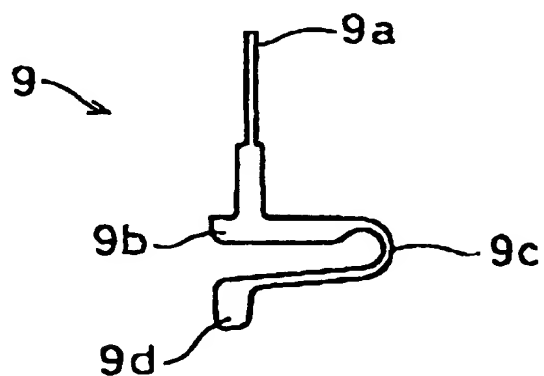


FIG. 7

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

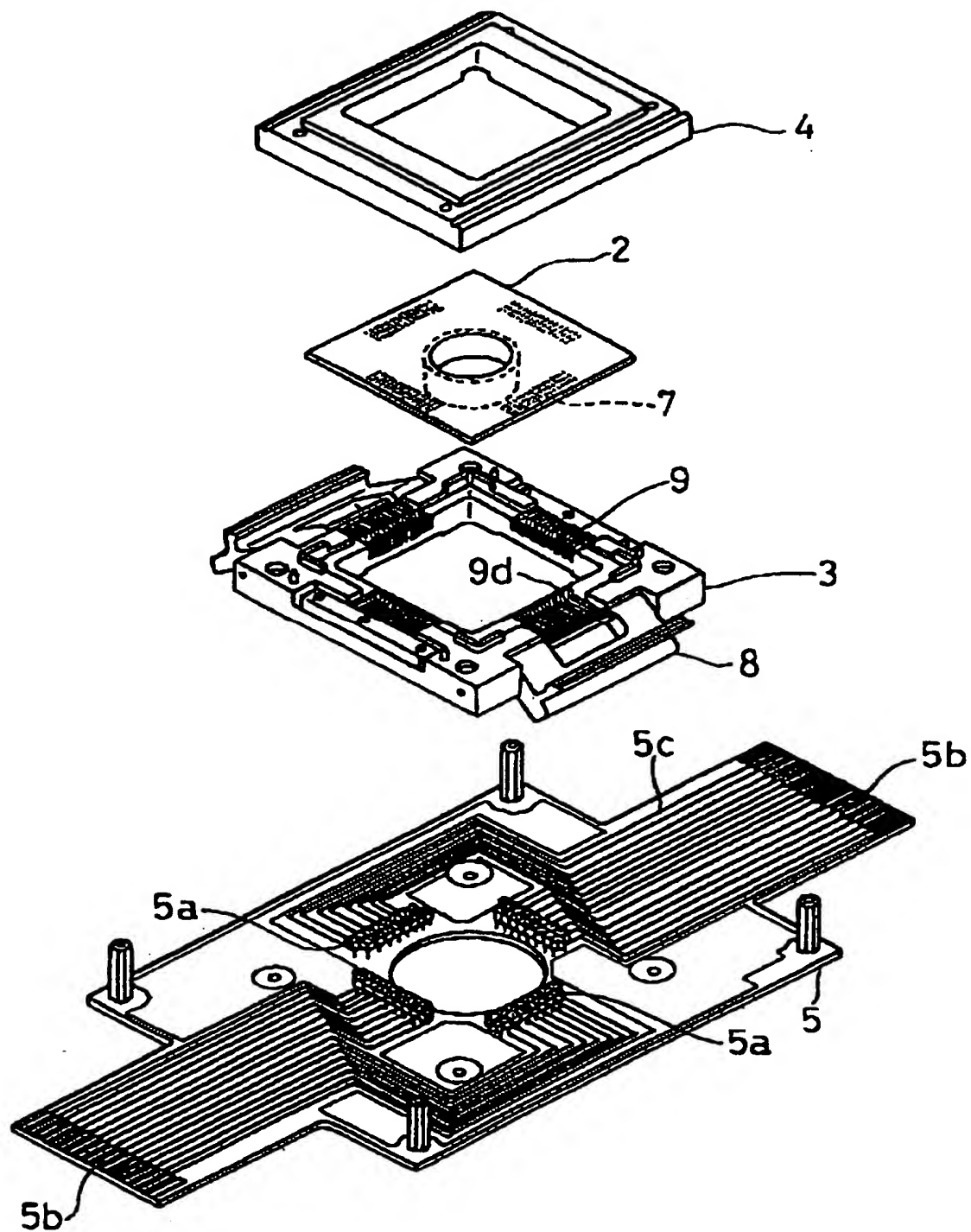


FIG. 8

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



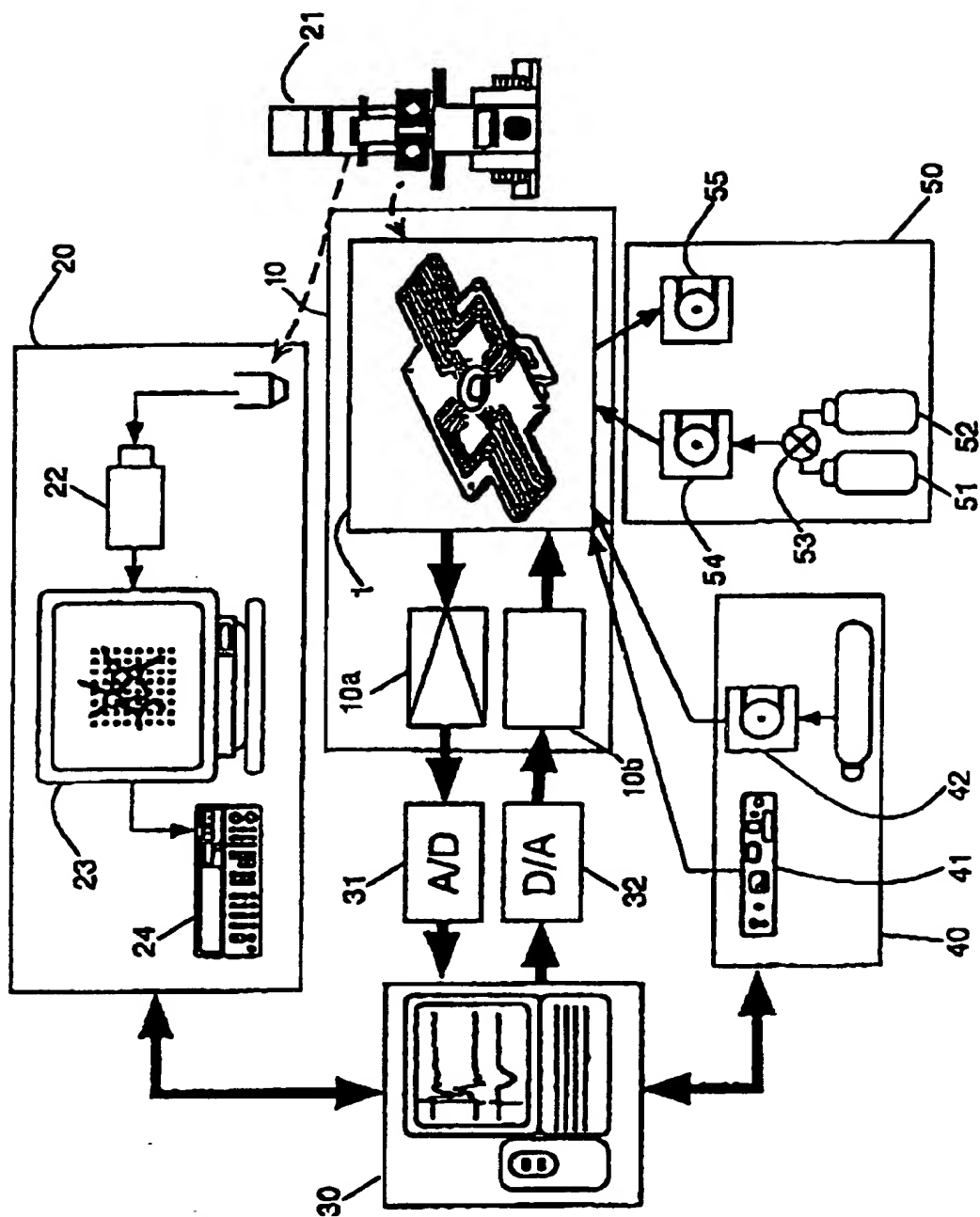


FIG. 9

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

FIG. 10 (a)

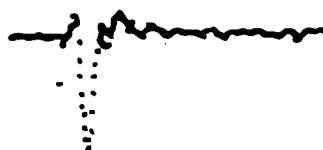


FIG. 10 (b)

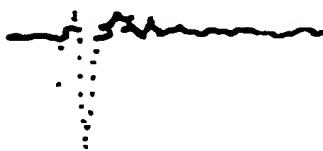


FIG. 10 (c)



FIG. 10 (d)

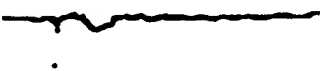


FIG. 10 (e)



0.2mv  
15msec

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

FIG. 11 (a)

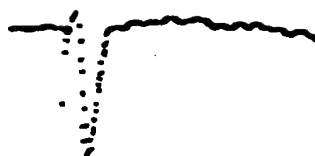
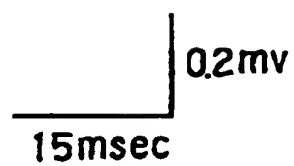


FIG. 11 (b)



FIG. 11 (c)



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



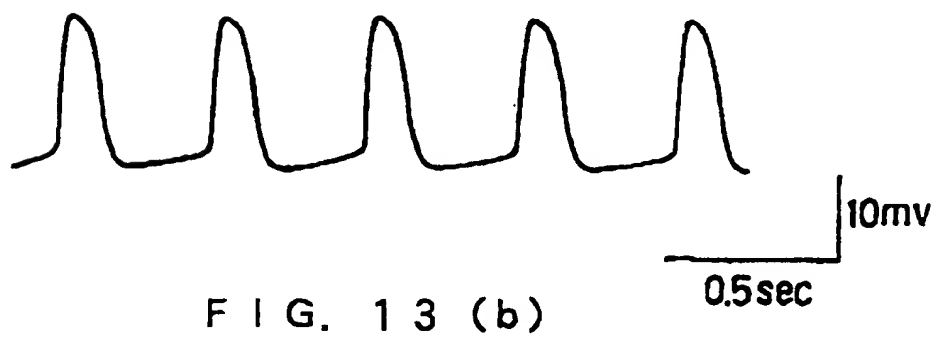
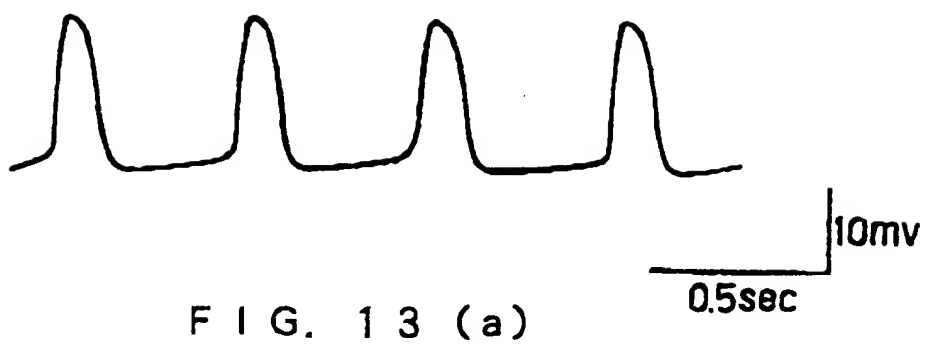
FIG. 12 (a)



FIG. 12 (b)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**





**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

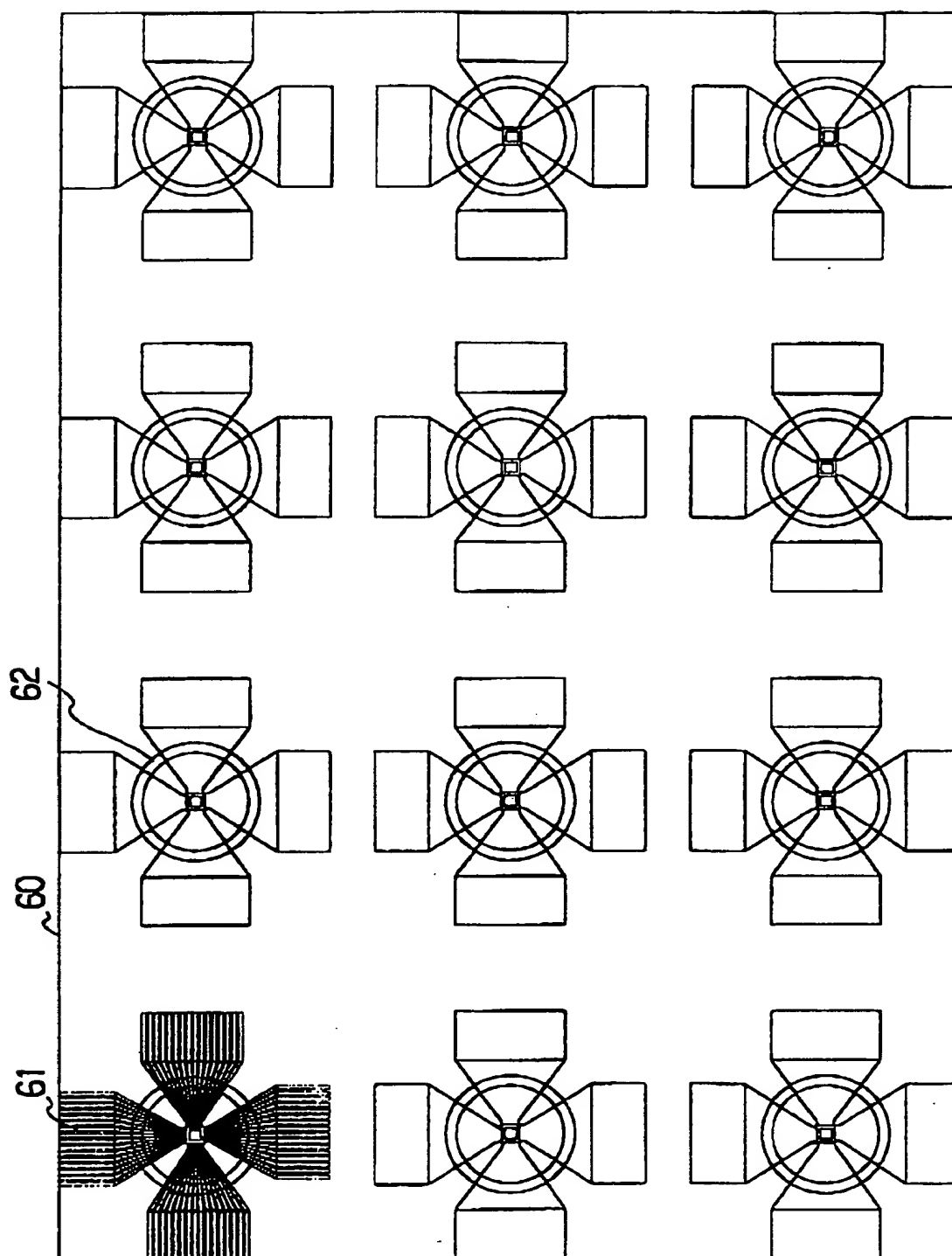


FIG. 14

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

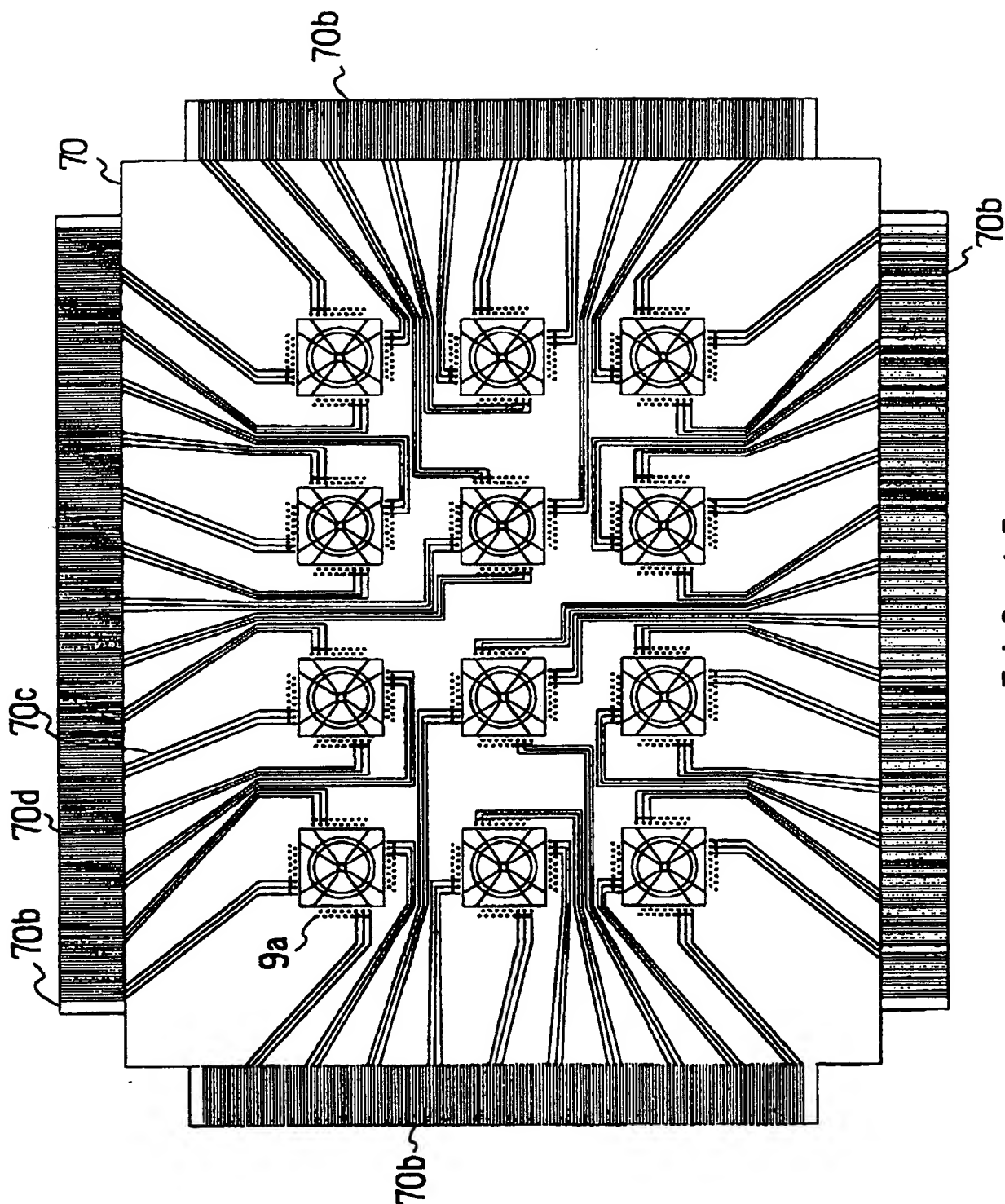


FIG. 15

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

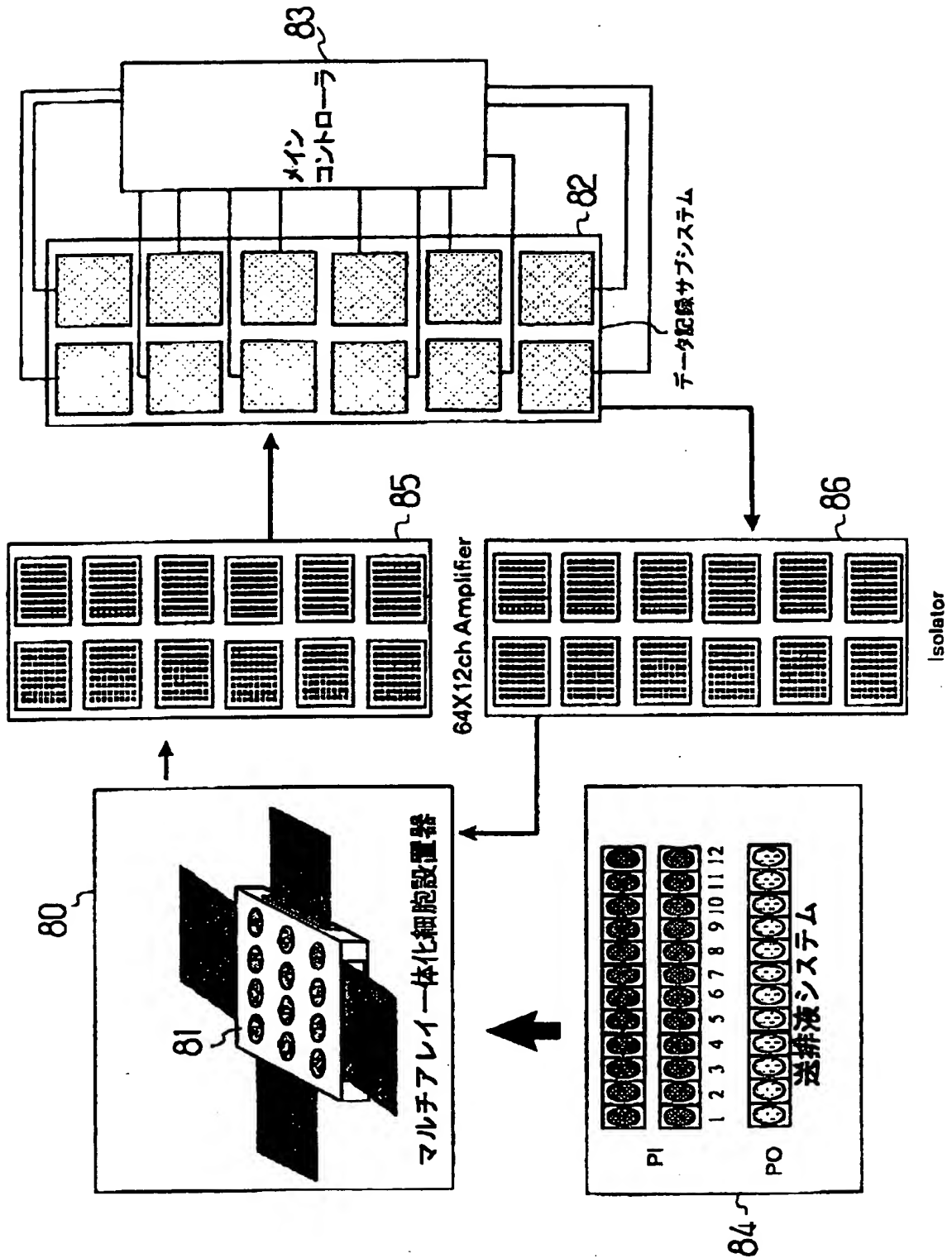


FIG. 16

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



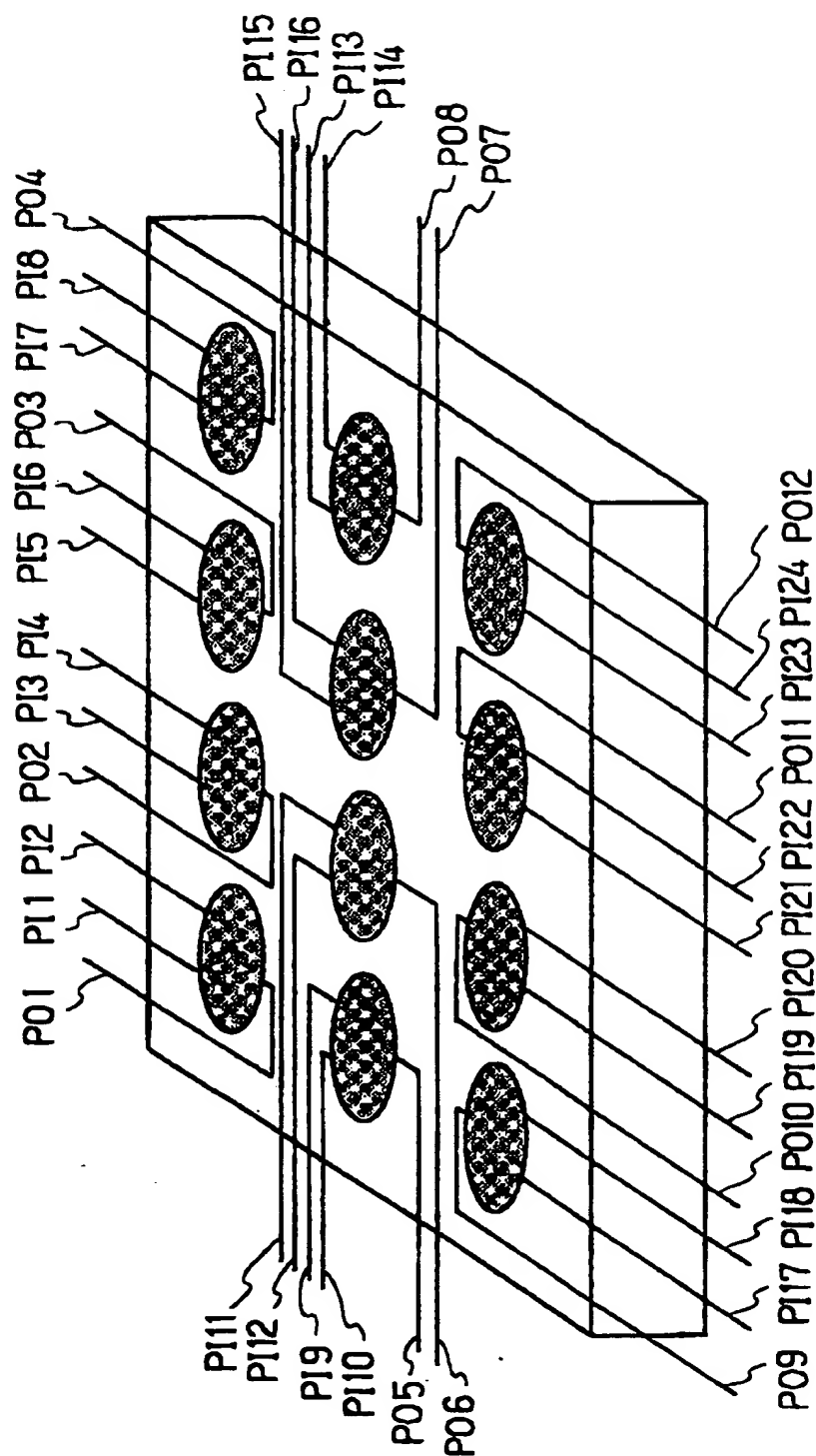


FIG. 17

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**